



UFAL

INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA

**ESTUDO QUÍMICO DAS ESPÉCIES *Sabicea grisea* CHAM. & SCHLTDL. VAR.
grisea E *Psychotria barbiflora* D.C (RUBIACEAE) E AVALIAÇÃO DAS
ATIVIDADES ANTINOCICEPTIVA E ANTI-INFLAMATÓRIA DE
EXTRATOS E CONSTITUINTES ISOLADOS**

ANDERSON MARQUES DE OLIVEIRA

**Maceió- AL
2012**

Universidade Federal de Alagoas

**Campus A. C. Simões
Tabuleiro do Martins
57072-970 - Maceió-AL**

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA



ESTUDO QUÍMICO DAS ESPÉCIES *Sabicea grisea* CHAM. & SCHLTDL. VAR.
grisea E *Psychotria barbiflora* D.C (RUBIACEAE) E AVALIAÇÃO DAS
ATIVIDADES ANTINOCICEPTIVA E ANTI-INFLAMATÓRIA DE
EXTRATOS E CONSTITUINTES ISOLADOS

ANDERSON MARQUES DE OLIVEIRA

Maceió- AL
2012

ANDERSON MARQUES DE OLIVEIRA

**ESTUDO QUÍMICO DAS ESPÉCIES *Sabicea grisea* CHAM. & SCHLTDL. VAR.
grisea E *Psychotria barbiflora* D.C (RUBIACEAE) E AVALIAÇÃO DAS
ATIVIDADES ANTINOCICEPTIVA E ANTI-INFLAMATÓRIA DE
EXTRATOS E CONSTITUINTES ISOLADOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia do Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas, como requisito para obtenção do título de **Doutor em Ciências**.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Lucia Maria Conserva

Coorientador: Prof. Dr. Emiliano de Oliveira Barreto

**Maceió-AL
2012**

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico

Bibliotecária Responsável: Responsável: Helena Cristina Pimentel do Vale

O48e Oliveira, Anderson Marques de.
Estudo químico das espécies *Sabicea grisea* Cham. & Schltdl. var. *grisea* e *Psychotria barbiflora* D. C (Rubiaceae) e avaliação das atividades antinociceptiva e anti-inflamatória de extratos e constituintes isolados / Anderson Marques de Oliveira. – 2012.

174 f. : grafs. e tabs.

Orientadora: Lúcia Maria Conserva.

Co-Orientador: Emiliano de Oliveira Barreto.

Dissertação (mestrado em Química e Biotecnologia) – Universidade Federal de Alagoas. Centro de Ciências Exatas. Instituto de Química e Biotecnologia. Maceió, 2012.

Bibliografia: f. 153-174.

1. *Sabicea grisea*. 2. *Psychotria barbiflora*. 3. Octacosanol. 4. Ácido siaresinólico. 5. Antinociceptivo. 6. Anti-inflamatório. I. Título

CDU: 547.9



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA E
BIOTECNOLOGIA

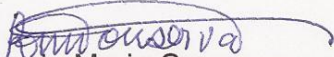


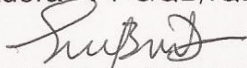
BR 104 Km14, Campus A. C. Simões
Cidade Universitária, Tabuleiro dos Martins
57072-970, Maceió-AL, Brasil
Fone: (82) 3214-1384
Email: ppgqb.ufal@gmail.com

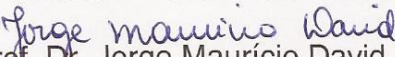
FOLHA DE APROVAÇÃO


Membros da Comissão Julgadora da Tese de Doutorado de **Anderson Marques de Oliveira**, intitulada: “**Estudo Químico das Espécies *Sabicea grisea Cham. & Schtdl. var. grisea e Psychotria barbiflora D.C.* (Rubiaceae) e Avaliação das Atividades Antinociceptiva e Anti-inflamatória de Extratos e Constituintes Isolados**”, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas em 12 de junho de 2012, às 08h00min, na Sala de Aula do PPGQB UFAL..

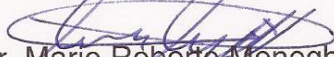
COMISSÃO JULGADORA

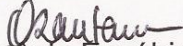

Prof.^a. Dr.^a. Lucia Maria Conserva
Orientadora - PPGQB/IQB/UFAL


Prof. Dr. Emiliano de Oliveira Barreto
Coorientador-PPGQB/IQB/UFAL


Prof. Dr. Jorge Mauricio David
IQ/UFBA


Prof.Dr. Robinson Sabino da Silva
ICBS/UFAL


Prof. Dr. Mario Roberto Meneghetti
PPGQB/IQB/UFAL


Prof.Dr.Antônio Euzébio Goulart Sant'Ana
PPGQB/IQB/UFAL

DEDICATÓRIA

Inicialmente pediria desculpa pela quebra de protocolo, pois gostaria de narrar alguns fatos que ocorreram no decorrer destes quatro anos. Quando vim para Maceió para realizar o doutorado no início de 2008, tive a triste notícia de que minha querida **avó Doraci** tinha sido diagnosticada com câncer no ovário. Foi um susto para todos da família, mas logo então foi iniciado o tratamento com cirurgia seguida de quimioterapia. Após seis meses tivemos a boa notícia de que o câncer havia sido curado (Que alívio!). Quase dois anos depois, já em 2010, exames de rotina demonstraram a presença de células neoplásicas. É iniciada nova quimioterapia e após seis meses, novamente, tivemos a informação de que não existiam indícios de neoplasia. Em 2011, começa a surgir um quadro doloroso, até então não presente, exames apontaram a presença de um tumor próximo à bexiga. É realizada uma cirurgia onde é detectado um quadro de metástase. Nesta situação, segundo os médicos que a tratava, restava apenas à possibilidade de uma nova quimioterapia. Só que nesta vez, o quimioterápico não surtiu efeito. Vários dias e meses (quatro na verdade) passavam-se e o quadro não apresentava melhora. Nestes meses, vi um quadro de **dor quase que interrupta**, vi os **alcaloides codeína** e a famosa **morfina** se comportarem de forma, quase que, inócua. Pude então comprovar que por mais antagônico que possa parecer **à dor** é realmente **um sinal vital**, pois enquanto havia **dor** havia a **vida**. Mas pude também compreender que **o alívio da dor** é um direito humano básico. Vi também uma senhora de quase oitenta anos, num quadro extremamente doloroso, repetir várias vezes que não iria desistir e que queria viver. Estas palavras ecoam fortemente na sociedade atual onde pessoas de tenra idade tiram a vida por causas banais. Vi uma mulher movida por sua **fé** acreditar no impossível e ao mesmo tempo ter um **racionalismo** ao ponto dela mesmo confortar seus entes. No raiar de 24 de Dezembro de 2011, um **Sábado**, véspera da data atribuída ao nascimento do **DEUS MENINO, Dona Dora** (como eu a chamava) descansa. **Dedico este trabalho a minha Avó Doraci**, por seu exemplo de fé, sabedoria e luta. Também **dedico a DEUS**, pois apesar de algumas vezes não compreendê-lo, eu sinto-O, sei que é meu Amigo em todos os momentos e sei do Seu amor por mim. Finalizando, aproveito a oportunidade para ratificar a confiança que tenho NEle parafraseando Jó: O SENHOR nos deu Doraci, o SENHOR a tomou, bendito seja o nome do SENHOR (**Livro de Jó 2:10**)

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

A minha **mãe Maria**, pela vida, por todo amor e incentivo;

Ao meu **avô Antônio Marques** pelo exemplo de trabalho, fé e coragem;

A minha **esposa Meilline** por todo amor, paciência e compreensão;

Ao meu produto natural predileto (**minha filha Giovanna**) por todo estímulo, numa perspectiva, de propiciá-la um futuro melhor;

E a todos os **membros da minha família** pelo apoio e bons momentos compartilhados.

AGRADECIMENTOS

Durante o percurso de criação deste trabalho, mesmo tendo consciência da necessidade de focar no destino final, tive a ventura de por alguns momentos apreciar a paisagem no decorrer da caminhada, dentro desta paisagem encontrei pessoas com grande generosidade, dando-me apoio e presenteando-me com amizade verdadeira, sem qual esta investida seria impossível. Assim, por eternamente grato, exprimo aqui meus sinceros agradecimentos e alegria por ter cruzado o caminho destas pessoas.

À minha Orientadora, **Prof^a. Dr^a. Lucia Maria Conserva**, pelo apoio incontestável, certas guias, amizade, exemplo de trabalho e maturidade profissional e pelos bons momentos compartilhados;

Ao meu Co-orientador, **Prof. Dr. Emiliano de Oliveira Barreto**, pela acessibilidade, concessão do laboratório para realização dos experimentos farmacológicos e por ser exemplo de disposição e empolgação com o desenvolvimento do trabalho;

A botânica, do Instituto de Meio Ambiente de Alagoas – IMA, **Rosangela Pereira de Lyra Lemos**, pela coleta e identificação do material vegetal;

Aos **Professores do Instituto de Química e Biotecnologia**, em especial a **Prof^a Dr^a Margarida Maria dos Santos Humberto**, pelos ensinamentos e apoio, que me serviram como pedra fundamental para construção deste trabalho;

Aos amigos **Fernando Maia, Jataí Sobreira, Jéssu Ferreira, José Rui Machado, Maria José Cavalcante e Sandovânio Ferreira (em ordem alfabética para ninguém ficar com raiva)** pela amizade e pelos vários momentos de descontração compartilhados;

Aos Colegas do LPqPN **Cinthia, Rossiel, Bruno, Aryana, Thaisa, Jayran, Vivian, Patrícia, Ernande, Karlly** e aos professores doutores **Maria Lysete Bastos e Ricardo S. Porto** pelo compartilhamento de conhecimento e momentos agradáveis;

Aos colegas do Laboratório de Biologia Celular, em especial a **Jamylle Ferro** pela disposição de estar sempre presente na realização dos ensaios farmacológicos;

Ao técnico e amigo, **Adilson Rodrigues**, pela disposição para realização dos espectros de RMN;

A todos os funcionários do Instituto de Química e Biotecnologia, em especial a **Aldy dos Santos e Olávia Rejane Montenegro**, pela disposição, acessibilidade e vários favores prestados.

A **Universidade Federal de Alagoas (UFAL)** pela oportunidade de realizar o curso de Doutorado;

Ao **Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Bahia (IFBA)** pela liberação para realização do Doutorado;

Ao **Conselho Nacional de desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)**, **Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Alagoas (FAPEAL)** e a **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)** pelos recursos financeiros e bolsa de estudo concedida;

A **todos**, que de uma forma direta ou indireta contribuíram para realização deste trabalho.

Cada planta é um livro, com informações preciosas, sobre o desenvolvimento da floresta, seu passado remoto, seu futuro. Destruir a floresta é como incendiar mil Alexandrias.

Otto R. Gottlieb

Nunca tenham medo de tentar algo novo. Lembre-se de que um amador solitário construiu a Arca. Um grande grupo de profissionais construiu o Titanic.

Luís Fernando Veríssimo

Desde o princípio

E disse Deus: produza a terra plantas, ervas que contenham sementes e árvores frutíferas que deem fruto segundo a sua espécie... E viu Deus que isto era bom.

Gênesis 1: 11 e 12

Até a eternidade

No meio de sua praça, de uma e outra margem do rio, está a árvore da vida... e as folhas da árvore são para a cura dos povos.

Apocalipse 22: 2

As plantas sempre estarão sendo utilizadas pelo homem

RESUMO

Este trabalho descreve o estudo químico e farmacológico dos extratos e compostos isolados de duas espécies de Rubiaceae (*Sabicea grisea* Cham. & Schltldl. var. *grisea* e *Psychotria barbiflora* DC.). Extratos e frações de *S. grisea*, bem como frações com reações positivas para alcaloides obtidas de *P. barbiflora*, exibiram redução significativa da resposta nociceptiva, com inibição superior ou comparável ao fármaco de referência, indometacina. O estudo químico das frações das folhas e caule de *S. grisea*, guiados pelos ensaios farmacológicos, resultou no isolamento de dois alcoóis saturados, octacosanol e hexacosanol, dois triterpenos pentacíclicos da série oleanano, ácidos siaresinólico e 3-O- α -L-rhamnopiranosil-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopiranosilsiaresinólico, os ácidos salicílico e vanílico, a escopoletina, o cafeato de etila, além dos fitoesteroides, o β -sitosterol e 3-O- β -D-glicopiranosilsitosterol. Não há relatos sobre a presença destes compostos no gênero *Sabicea* e não foi encontrado registro sobre o ácido 3-O- α -L-rhamnopiranosil-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopiranosilsiaresinólico, nomeado de Gottliebsídeo, uma singela homenagem ao maior Químico em Produtos Naturais do Brasil, Prof. Otto Richard Gottlieb, sendo, portanto, um novo produto natural. O estudo químico das frações alcaloídicas das folhas e caule de *P. barbiflora* conduziu, pela primeira vez, ao isolamento de dois alcaloides β -carbolínicos, harmana e ácido strictosidínico, cujas ocorrências corroboram com a inclusão desta espécie no subgênero *Heteropsychotria*. Nos ensaios farmacológicos, o octacosanol (10 e 1 mg/kg, i.p) e o ácido siaresinólico (1 e 0,1 mg/kg, i.p) apresentaram efeitos antinociceptivos periféricos mediado por receptores α 2-adrenérgicos e canais de K⁺ATP-dependente, respectivamente. Além disso, estes compostos inibiram o acúmulo de células inflamatórias, bem como os níveis de TNF- α no modelo de inflamação induzida por carragenina, indicando uma ação anti-inflamatória. Em adição, o octacosanol (\leq 200 μ g/ml) e o ácido siaresinólico (\leq 50 μ g/ml) não foram capazes de induzir morte nas célula quando avaliados no teste de redução do brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (MTT), revelando ausência de citotoxicidade destes compostos.

Palavras Chave: *Sabicea grisea*. Octacosanol. Ácido siaresinólico. Ácido 3-O- α -L-rhamnopiranosil-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopiranosilsiaresinólico. *Psychotria barbiflora*. Alcaloides β -carbolínicos. Antinociceptivo. Anti-inflamatório.

ABSTRACT

This work describes the study chemical and pharmacological of the extracts and compounds isolated from two species of Rubiaceae (*Sabicea grisea* Cham. & Schlttdl. var. *grisea* and *Psychotria barbiflora* DC.). Extracts and fractions of *S. grisea*, and fractions which showed positive reactions record to alkaloids of *P. barbiflora*, exhibited a significant reduction in the nociceptive response, with inhibition upper or comparable to the reference drug, indomethacin. The chemical study of fractions from leaves and stems of *S. grisea*, guided by pharmacological tests, resulted to the isolation of two saturated alcohols, octacosanol and hexacosanol, two pentacyclic triterpenes oleanane serie, siaresinolic and 3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranosylsioresinolic acids, vanillic and salicylic acids, scopoletin, ethyl caffeate and two phytosteroids, β -sitosterol and 3-O- β -D-glucopyranosylsitosterol. It is noteworthy that no previous reports about the presence of these compounds in the genus *Sabicea*. Moreover, no record was found on the 3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranosyl-sioresinolic acid, named Gottliebside, an simple tribute to the greatest Natural Products Chemistry of the Brazil, Prof. Otto Richard Gottlieb, therefore, a new natural product. The chemical study of alkaloidal fractions from leaves and stems of *P. barbiflora* led to the isolation of two β -carboline alkaloids, harman and stricnosidinic acid, whose occurrences corroborate the inclusion of this species in the subgenus *Heteropsychotria*. In the pharmacological tests, octacosanol (10 and 1 mg/kg, i.p) and siaresinolic acid (1 and 0.1 mg/kg, i.p) showed peripheral antinociceptive effects mediated by α 2-adrenergic receptors and channel K⁺ ATP-dependent, respectively. Furthermore, these compounds inhibited the accumulation of inflammatory cells, as well as TNF- α in the model of carrageenan-induced inflammation, indicating an anti-inflammatory action. In addition, these compounds (\leq 200 μ g/ml and \leq 50 μ g/ml, respectively) were unable to induce cell death in when evaluated in the reduction of 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) test, demonstrating the absence of cytotoxicity of these compounds.

Keywords: *Sabicea grisea*. *Psychotria barbiflora*. Octacosanol. Sioresinolic acid. 3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranosylsioresinolic acid, β -carboline alkaloids. Antinociceptive. Anti-inflammatory.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Representação geral evidenciando a percepção da dor	26
Figura 2 -	As principais manifestações locais da inflamação aguda, comparadas ao normal	28
Figura 3 -	Migração de leucócitos para alcançar o foco inflamatório	29
Figura 4 -	Foto de <i>Sabicea grisea</i> Cham. & Schltld. var. <i>grisea</i>	34
Figura 5 -	Foto de <i>Psychotria barbiflora</i> DC	36
Figura 6 -	Tipos de esqueleto β -carbolínico	39
Figura 7 -	Perfil dos tipos de alcaloides relatados em espécies do gênero <i>Psychotria</i>	40
Figura 8 -	Estrutura dos Alcaloides isoquinolínicos, quinolínicos, poliindolínicos e triptamínicos descritos no gênero <i>Psychotria</i>	49
Figura 9 -	Estrutura dos alcaloides com esqueleto β -carbolínico descritos no gênero <i>Psychotria</i>	69
Figura 10 -	Esquema geral do procedimento experimental efetuado com as folhas de <i>S. grisea</i>	70
Figura 11 -	Esquema geral do procedimento experimental efetuado com o caule de <i>S. grisea</i>	73
Figura 12 -	Esquema geral do procedimento experimental efetuado com as folhas de <i>P. barbiflora</i>	75
Figura 13 -	Esquema geral do procedimento experimental efetuado com o caule de <i>P. barbiflora</i>	76
Figura 14 -	Substâncias isoladas de <i>Sabicea grisea</i> e <i>Psychotria barbiflora</i>	88
Figura 15 -	Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) das substâncias SgFH-1a e SgFH-1b	91
Figura 16 -	Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) das substâncias SgFH1a e SgFH-1b	91
Figura 17 -	Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135 (100 MHz, CDCl_3) das substâncias SgFH-1a e SgFH-1b	92
Figura 18 -	Perfil cromatográfico das substâncias SgFH-1a e SgFH-1b	92

Figura 19 -	Espectros de massas das substâncias SgFH-1a (A) e SgFH-1b (B)	93
Figura 20 -	Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) da substância SgFH-2	96
Figura 21 -	Espectro de RMN ^1H (400 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) da substância SgFH-3.	97
Figura 22 -	Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da substância SgFH-2	97
Figura 23 -	Espectro RMN ^{13}C -DEPT 135 (100 MHz, CDCl_3) da substância SgFH-2	98
Figura 24 -	Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) da substância SgFH-3	98
Figura 25 -	Espectro RMN ^{13}C -DEPT 135 (100 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) da substância SgFH-3	99
Figura 26A -	Espectro de RMN ^1H (400 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) da substância SgFC-1	104
Figura 26B -	Espectro de RMN ^1H (400 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) ampliado (δ 2,94-3,40) da substância SgFC-1	105
Figura 27A -	Espectro de RMN ^1H (400 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) da substância SgFC-3	105
Figura 27B -	Espectro de RMN ^1H (400 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) ampliado (δ 3,02-3,35) da substância SgFC-3	106
Figura 27C -	Espectro de RMN ^1H (400 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) ampliado (δ 3,38-3,90) da substância SgFC-3	106
Figura 28 -	Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) da substância SgFC-1	107
Figura 29 -	Espectro DEPT (100 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) da substância SgFC-1	107
Figura 30 -	Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) da substância SgFC-3	108
Figura 31 -	Espectro DEPT (100 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) da substância SgFC-3	108
Figura 32 -	Espectro HSQC (^1H : 400; ^{13}C : 100 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) da substância SgFC-1	109
Figura 33 -	Espectro HSQC (^1H : 400; ^{13}C : 100 MHz, $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$) da substância SgFC-3	109
Figura 34 -	Espectro HMBC (^1H : 400; ^{13}C : 100 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) da substância SgFC-1	110
Figura 35 -	Espectro HMBC (^1H : 400; ^{13}C : 100 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) da substância SgFC-3	110
Figura 36 -	Espectro na região de infravermelho (KBr) da substância SgFC-3	111
Figura 37 -	Espectro de RMN ^1H (400 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) da substância SgCC-1	113

Figura 38 -	Espectro de RMN ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃ /CD ₃ OD) da substância SgCC-1	114
Figura 39 -	Espectro de RMN ¹³ C-DEPT (100 MHz, CDCl ₃ /CD ₃ OD) da substância SgCC-1.	114
Figura 40 -	Espectro de HSQC (¹ H: 400; ¹³ C: 100 MHz, CDCl ₃ /CD ₃ OD) da substância SgCC-1	115
Figura 41 -	Espectro de HMBC (¹ H: 400; ¹³ C: 100 MHz, CDCl ₃ /CD ₃ OD) da substância SgCC-1	115
Figura 42 -	Espectro de RMN ¹ H (400 MHz, CDCl ₃ /CD ₃ OD) da substância SgCC-2	118
Figura 43 -	Espectro de RMN ¹ H (400 MHz, CD ₃ OD) da substância SgCC-3	119
Figura 44 -	Espectro de RMN ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃ /CD ₃ OD) da substância SgCC-2	119
Figura 45 -	Espectro de RMN ¹³ C-DEPT (100 MHz, CDCl ₃ /CD ₃ OD) da substância SgCC-2	120
Figura 46 -	Espectro de RMN ¹³ C (100 MHz, CD ₃ OD) da substância SgCC-3	120
Figura 47 -	Espectro de RMN ¹³ C-DEPT (100 MHz, CD ₃ OD) da substância SgCC-3	121
Figura 48 -	Espectro de RMN ¹ H (400 MHz, CD ₃ OD) da substância SgCC-4	123
Figura 49 -	Espectro de RMN ¹³ C (100 MHz, CD ₃ OD) da substância SgCC-4	123
Figura 50 -	Espectro DEPT (100 MHz, CD ₃ OD) da substância SgCC-4	124
Figura 51A -	Espectro de RMN ¹ H (400 MHz, CDCl ₃ /CD ₃ OD) da substância PbFC-1	130
Figura 51B -	Espectro de RMN ¹ H (400 MHz, CDCl ₃ /CD ₃ OD) ampliado (δ 7,50-8,60) da substância PbFC-1	130
Figura 52A -	Espectro de RMN ¹ H (400 MHz, CD ₃ OD) da substância PbCAC-1	131
Figura 52B -	Espectro de RMN ¹ H (400 MHz, CDCl ₃ /CD ₃ OD) ampliado (δ 3,90-7,85) da substância PbCAC-1	131
Figura 53 -	Espectro de RMN ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃ /CD ₃ OD) da substância PbFC-1	132
Figura 54 -	Espectro DEPT (100 MHz, CDCl ₃ /CD ₃ OD) da substância PbFC-1	132
Figura 55 -	Espectro de HSQC (¹ H: 400; ¹³ C: 100 MHz, CDCl ₃ /CD ₃ OD) da substância PbFC-1	133

Figura 56 -	Espectro HMBC (^1H : 400; ^{13}C : 100 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) da substância PbFC-1	133
Figura 57 -	Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) da substância PbCAc-1	134
Figura 58 -	Espectro DEPT 135 (100 MHz, CD_3OD) da substância PbCAc-1	134
Figura 59 -	Espectro HSQC (^1H : 400; ^{13}C : 100 MHz, CD_3OD) da substância PbCAc-1	135
Figura 60 -	Efeito do Octacosanol no modelo de contorção abdominal induzida pelo ácido acético	139
Figura 61 -	Efeito do Ácido siaresinólico no modelo de contorção abdominal induzida pelo ácido acético	139
Figura 62 -	Efeito do pré-tratamento com ioimbina (1 mg/kg, s.c), naloxona (5 mg/kg, s.c), atropina (2 mg/kg, s.c), glibenclamida (10 mg/kg, s.c) e metaclopramida (1 mg/kg, s.c) nos perfis antinociceptivos do Octacosanol (10 mg/kg; A) e do Ácido siaresinólico (1 mg/kg; B)	141
Figura 63 -	Efeito do Octacosanol (1 e 10 mg/kg) sobre a nocicepção induzida por formalina	144
Figura 64 -	Efeito do Ácido siaresinólico (0,1 e 1 mg/kg) sobre a nocicepção induzida por formalina	145
Figura 65 -	Efeito do octacosanol e do ácido siaresinólico na viabilidade celular de macrófagos peritoneiais obtidos de camundongos Swiss	149

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Espécies do gênero <i>Sabicea</i> encontradas no Brasil	33
Tabela 2 -	Alcaloides isoquinolínicos, quinolínicos, poliindolínicos e triptamínicos descritos em espécies de <i>Psychotria</i>	41
Tabela 3 -	Alcaloides com esqueleto β -carbolínico descritos em espécies de <i>Psychotria</i>	55
Tabela 4 -	Avaliação da atividade antinociceptiva dos extratos e frações de <i>S. grisea</i> , no teste de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético	86
Tabela 5 -	Avaliação da atividade antinociceptiva dos extratos e frações de <i>P. barbiflora</i> no teste de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético	87
Tabela 6 -	Dados de RMN (^1H : 400; ^{13}C : 100 MHz, CDCl_3 , δ , Hz) das substâncias codificadas de SgFH-1a e SgFH-1b e comparação com os dados da literatura do Octacosanol	90
Tabela 7 -	Dados de RMN (^1H : 400; ^{13}C : 100 MHz, δ , Hz) das substâncias SgFH-2 (CDCl_3) e SgFH-3 ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) e comparação com os dados da literatura do β -Sitosterol do 3-O- β -Glicopiranosilsterol	95
Tabela 8 -	Dados de RMN (^1H : 400; ^{13}C : 100 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$, δ , Hz) da substância codificada de SgFC-1 e comparação com os dados do Ácido siaresinólico e Ácido oleanólico	102
Tabela 9 -	Dados de RMN (^1H : 400; ^{13}C : 100 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$, δ , Hz) da substância SgFC-3 e comparação com os dados de 3-O- α -L-Rhamnopiranosil-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopiranosilsiaresinolato de 28-O- β -D-glicopiranosila	103
Tabela 10 -	Dados de RMN (^1H : 400; ^{13}C : 100 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$, δ , Hz) da substância codificada de SgCC-1 e comparação com os dados da literatura da Escopoletina e da Isoescopoletina	113
Tabela 11 -	Dados de RMN (^1H : 400; ^{13}C : 100 MHz, CD_3OD , δ , Hz) da substância codificada de SgFC-2 e comparação com os dados da literatura do Ácido salicílico	117
Tabela 12 -	Dados de RMN (^1H : 400; ^{13}C : 100 MHz, CD_3OD , δ , Hz) da substância SgCC-3 e comparação com os dados da literatura do Ácido Vanílico e Ácido Isovanílico	118

Tabela 13 -	Dados de RMN (^1H : 400; ^{13}C : 100 MHz, CD_3OD , δ , Hz) da substância SgCC-4 e comparação com dados do Cafeato de etila	122
Tabela 14 -	Dados de RMN (^1H : 400; ^{13}C : 100 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$, δ , Hz) da substância PbFC-1 e comparação com os dados da literatura da Harmana	128
Tabela 15 -	Dados de RMN (^1H : 400; ^{13}C : 100 MHz, CD_3OD , δ , Hz) da substância PbCAc-1 e comparação com dados dos Ácidos Estrictosidínico e epi-Estrictosidínico	129
Tabela 16 -	Efeitos do <i>Octacosanol</i> e do <i>Ácido siaresinólico</i> sobre o total de leucócitos, neutrófilos e células mononucleares no modelo de pleurisia induzida por carragenina (Cg) em camundongos	147
Tabela 17 -	Efeito do <i>Octacosanol</i> e do <i>Ácido siaresinólico</i> nos níveis de fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) no modelo de pleurisia induzida por carragenina (Cg) em camundongos	147

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E SIGLAS

AcOEt	Acetato de etila
ANOVA	Analysis of Variance
ATP	Trifosfato de adenosina
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CDCl₃	Clorofórmio deuterado
C₅D₅N	Piridina deuterada
CD₃OD	Metanol deuterado
CG	Cromatografia Gasosa
CG-EM	Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas
CI₅₀	Concentração Inibitória capaz de inibir 50% de uma resposta
d	Dupleto
dd	Duplo dupleto
DMSO	Dimetilsulfóxido
DEPT	Distortioless Enhancement by Polarization Transfer
dt	Duplo tripleto
EDTA	Ethylenediamine Tetraacetic Acid
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
EPM	Erro Padrão da Média
Et	Etila
EtOH	Etanol
Gli	Glicose
HIV	Human Immunodeficiency Virus
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence
Hz	Hertz
IASP	International Association for the Study of Pain
i.p.	Intraperitoneal
J	Constante de acoplamento
m	Multipleto
Me	Metila
MeOH	Metanol
MHz	Megahertz
MTT	Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio
NCI	National Cancer Institute
OPB	<i>o</i> -Phenylenediamine Dihydrochloride
p.	Página

PBS	Phosphate Buffered Saline
p.f	Ponto de fusão
pp.	Páginas
PGE₂	Prostaglandina E ₂
PGF₂	Prostaglandina F ₂
RMN ¹H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
RMN ¹³C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono Treze
s	Simpleto
s.c.	Subcutânea
SNC	Sistema Nervoso Central
sl	Simpleto largo
t	Tripleto
TNF	Fator de Necrose Tumoral
TMS	Tetrametilsilano
δ	Deslocamento químico

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	21
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA: CONSIDERAÇÕES SOBRE DOR, INFLAMAÇÃO, FAMÍLIA RUBIACEAE, GÊNEROS E ESPÉCIES VEGETAIS SELECIONADAS	24
2.1	Dor	24
2.2	Inflamação	27
2.3	Família Rubiaceae	30
2.4	O Gênero <i>Sabicea</i>	32
2.5.	O Gênero <i>Psychotria</i>	34
2.5.1	Uso Etnobotânico, Atividades Farmacológicas e Alcaloides de <i>Psychotria</i>	37
3	OBJETIVOS	65
3.1	Geral	65
3.2	Específicos	65
4	EXPERIMENTAL	66
4.1	Materiais, Métodos e Equipamentos	66
4.2	Animais	68
4.3	Coleta e Identificação dos Materiais Vegetais	68
4.4	Preparação dos Extratos	68
4.4.1	Prospecção Fitoquímica para Alcaloides com Extratos e Frações	69
4.4.1.2	Preparação dos Reagentes	69
4.5	Investigação Fitoquímica	70
4.5.1	Procedimento Experimental Efetuado com as Frações das Folhas de <i>S. grisea</i>	70
4.5.1.1	Procedimento Experimental Efetuado com a Fração em Hexano	70
4.5.1.2	Procedimento Experimental Efetuado com a Fração em Clorofórmio	71

4.5.1.3	Procedimento Experimental Efetuado com a Fração em Acetato de Etila	72
4.5.2	Procedimento Experimental Efetuado com as Frações do Caule da Espécie <i>S. grisea</i>	72
4.5.2.1	Procedimento Experimental Efetuado com a Fração em Hexano	73
4.5.2.2	Procedimento Experimental Efetuado com a Fração em Clorofórmio	73
4.5.2.3	Procedimento Experimental Efetuado com a Fração em Acetato de Etila	74
4.5.3	Procedimento Experimental Efetuado com as Frações das Folhas da Espécie <i>P. barbiflora</i>	74
4.5.3.1	Procedimento Experimental Efetuado com a Fração em Clorofórmio	74
4.5.3.2	Procedimento Experimental Efetuado com a Fração em Acetato de Etila	75
4.5.4	Procedimento Experimental Efetuado com as Frações do Caule da Espécie <i>P. barbiflora</i>	76
4.6	Ensaio para Avaliação da Atividade Antinociceptiva	77
4.6.1	Teste de Contorções Abdominais Induzidas por Ácido Acético	77
4.6.1.1	Análise do Possível Mecanismo Antinociceptivo das Substâncias Codificadas de SgFH-1 e SgFC-1	77
4.6.2	Nocicepção Induzida por Estímulo Térmico	78
4.6.3	Teste do Desempenho Motor (Rota-rod)	78
4.6.4	Nocicepção Induzida por Formalina	79
4.7	Ensaio para Avaliação da Atividade Anti-inflamatória	79
4.7.1	Pleurisia induzida por carragenina	79
4.7.2	Quantificação de TNF- α	80
4.8	Avaliação da Atividade Citotóxica	81
4.9	Análise Estatística	81
4.10	Dados Físicos e Espectroscópicos das Substâncias Isoladas	82
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	85
5.1	Avaliação Preliminar da Atividade Antinociceptiva dos Extratos Frações	85

5.2	Substâncias Isoladas de <i>S. grisea</i> e <i>P. barbiflora</i>	87
5.3	Identificação Estrutural das Substâncias Isoladas de <i>S. grisea</i>	89
5.3.1	Identificação Estrutural das Substâncias SgFH-1a e SgFH-1b	89
5.3.2	Identificação Estrutural das Substâncias SgFH-2 e SgFH-3	93
5.3.3	Identificação Estrutural das Substâncias SgFC-1 e SgFC-3	99
5.3.4	Identificação Estrutural da Substância SgCC-1	111
5.3.5	Identificação Estrutural das Substâncias SgCC-2 e SgCC-3	116
5.3.6	Identificação Estrutural da Substância SgCC-4	121
5.4	Considerações Quimiotaxonômicas Sobre a Espécie <i>S. grisea</i>	124
5.5	Identificação Estrutural das Substâncias Isoladas de <i>P. barbiflora</i>	125
5.5.1	Identificação Estrutural das Substâncias Codificadas de PbFC-1 e PbCAC-1	125
5.6	Considerações Etnobotânicas e Quimiotaxonômicas Sobre a Espécie <i>P. Barbiflora</i>	135
5.7	Ensaio para Avaliação das Atividades Antinociceptivas e Anti-inflamatória do Octacosanol (SgFH-1a) e do Ácido Siaresinólico (SgFC-1)	137
5.7.1	Contorções Abdominais Induzidas pelo Ácido Acético	138
5.7.1.1	Análise dos Possíveis Mecanismos de Ação Envolvidos nas Atividades Antinociceptivas do Octacosanol e do Ácido Siaresinólico	140
5.7.2	Nocicepção Induzida por Estímulo Térmico	141
5.7.3	Teste do Desempenho Motor (Rota-rod)	142
5.7.4	Nocicepção Induzida por Formalina	143
5.7.5	Pleurisia Induzida por Carragenina	145
5.8	Avaliação da Atividade Citotóxica do Octacosanol e do Ácido Siaresinólico	148
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	150
	REFERÊNCIAS	153

1 INTRODUÇÃO

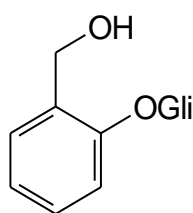
O desenvolvimento sustentável de um país depende essencialmente de políticas consistentes no campo da educação, ciência, tecnologia e inovação, capaz de garantir o equilíbrio entre a preservação da biodiversidade e a exploração racional de fontes naturais. Na atualidade, a garantia deste equilíbrio mostra-se necessário para permitir avanços em diferentes segmentos da sociedade, tais como alimentação, economia e saúde. Pesquisas na área da fitoquímica podem contribuir significativamente para a concretização de tal desenvolvimento por permitir: i) investigação da flora e seu quimismo; ii) avaliação de atividades farmacológicas; iii) divulgação e geração de novos conhecimentos; iv) formação de recursos humanos qualificados (BRAZ-FILHO, 2010).

Quando se trata de riquezas naturais, o Brasil possui grande vantagem em relação aos demais países do mundo, pois segundo estimativas da Convenção da Diversidade Biológica, o território brasileiro hospeda entre 15 e 20% de toda a biodiversidade mundial, sendo considerado o maior do planeta em número de espécies endêmicas (BARREIRO; BOLZANI, 2009). Esse imenso patrimônio genético, já escasso nos países desenvolvidos, tem na atualidade um valor econômico-estratégico inestimável em várias atividades, com especial destaque para o desenvolvimento de medicamentos a partir da fauna e da flora brasileira. Para ter uma noção desta atividade no mercado mundial, aproximadamente 49% dos fármacos desenvolvidos entre 1981 a 2002 foram obtidos a partir de produtos naturais, ou análogos semissintéticos ou ainda compostos sintéticos baseados em produtos naturais. Tal fato é comprovado pela evidência de que cerca de 25% dos fármacos prescritos no mundo são obtidos direta ou indiretamente de plantas (CALIXTO, 2003; KOEHN; CARTER, 2005).

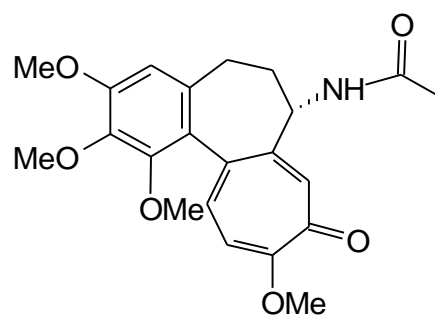
As plantas são valiosas fontes de compostos químicos que fornecem inúmeras substâncias novas para serem utilizadas como agentes terapêuticos (CORDELL, 2011). Apesar do aumento no desenvolvimento de medicamentos pela via sintética, a utilização de extratos vegetais e seus derivados como prática terapêutica vem resistindo à passagem do tempo e acompanhando o desenvolvimento dos povos (PATWARDHAN, 2005). Além disto, as moléculas extraídas das plantas têm fornecido modelos para modificações estruturais e otimização das propriedades farmacológicas

e bioquímicas, servindo, inclusive, para a inspiração de químicos orgânicos sintéticos, estimulando-os para enfrentar desafios na obtenção de novos compostos (BRAZ-FILHO, 2010).

Desde a antiguidade a humanidade procura encontrar meios para aliviar os distúrbios relacionados ao processo inflamatório, tais como dor, a febre e edema. Como exemplo, a prescrição das cascas de *Salix alba*, conhecida como salgueiro branco, de onde se obtém a Salicilina (**1**) já eram indicadas por Hipócrates (400 a.C) para o tratamento da dor e estado febril. Preparações a base de extratos de *Colchicum autumnale*, de onde se obtém o alcaloide Colchicina (**2**), são usadas desde o sexto século da nossa era para alívio das dores de origem articular (LUENGO, 2005). Os gregos, nos Jogos Olímpicos da Antiguidade, com o objetivo de aliviar a dor, tratavam os atletas que sofriam lesões musculares, fazendo uso de extratos ativos como anti-inflamatórios (DAVID; DAVID, 2002).



1



2

O processo inflamatório pode ser definido como uma resposta do tecido à injúria frente a estímulos químicos, físicos ou biológicos. Esta resposta de defesa do organismo mostra-se relacionada não apenas à eliminação dos agressores, mas também ao início do processo de restauração tecidual (MALDINI et al., 2009). Porém, quando a inflamação e/ou dor persiste por tempo maior que o necessário, dificultando as atividades diárias e reparação tecidual, estas passam a ter natureza patogênica (FREITAS et al., 2009).

A dor definida como uma “experiência sensorial e emocional desagradável associada a dano tecidual real ou potencial” decorre da ativação de receptores denominados nociceptores. A sensação dolorosa mostra-se como um dos sinais clássicos do processo inflamatório, mostrando-se persistente durante a lesão tecidual. Esta manifestação clínica mostra-se como a queixa mais comum entre os pacientes

que procuram atendimento médico. Logo, o tratamento da dor é um aspecto essencial da medicina moderna e para a qualidade de vida da população. No entanto, as terapias atuais são frequentemente insuficientes devido a severos efeitos indesejados, eficácia limitada, tolerância e dependência (BOURINET et al., 2005; VEROTTA et al., 2002).

Somente nos Estados Unidos, 40% de sua população relatam sentir dor diariamente, incluindo cerca de 50 milhões de portadores de dor crônica, sendo que grande parte está relacionada a distúrbios inflamatórios (DUBOIS; GALLAGHER; LIPPE, 2009). Globalmente, a dor tem uma dimensão impressionante, pois é responsável por mais de 80% das visitas hospitalares. Certas condições dolorosas são endêmicas: 70% daqueles com câncer têm dor e estima-se que 80% dos indivíduos com mais de 65 anos apresentam, pelo menos, um problema significativo de saúde que os predispõem a apresentar dor, e aproximadamente 50% tornam-se parcial ou totalmente incapacitados por ela, de modo transitório ou permanente (SOUZA; DA SILVA, 2005; DA CRUZ et al., 2011).

A prevalência da dor representa um enorme prejuízo econômico, pois vários bilhões de dólares são deixados de ser gerados em virtude de uma menor produtividade. A enxaqueca, por exemplo, é responsável por 157 milhões de dias de trabalho perdidos pelos norte americanos. Sendo o custo da dor de aproximadamente 100 bilhões de dólares anuais a serem gastos somente em cuidados. Dada à importância do seu tratamento, a Organização Mundial da Saúde, em 2004, declarou 11 de outubro como o Dia Mundial Contra a Dor (SOUZA; DA SILVA, 2005; DUBOIS; GALLAGHER; LIPPE, 2009).

Diante deste contexto, e sabendo das potencialidades das plantas como fontes de moléculas bioativas de interesse terapêutico, os laboratórios de Pesquisa em Química dos Produtos Naturais e de Biologia Celular da Universidade Federal de Alagoas desenvolvem pesquisas em conjunto com propósito de isolar e caracterizar metabólitos secundários bioativos. Extratos brutos, frações e/ou substâncias isoladas são submetidos aos bioensaios que avaliam as atividades antinociceptiva e anti-inflamatória. Deste modo, o presente trabalho buscou ampliar o conhecimento sobre a composição química e as atividades biológicas dos extratos e substâncias isoladas de duas espécies da família Rubiaceae, *Sabicea grisea* var. *grisea* Cham. & Schltdl. e *Psychotria barbiflora* DC.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA: CONSIDERAÇÕES SOBRE DOR, INFLAMAÇÃO, FAMÍLIA RUBIACEAE, GÊNEROS E ESPÉCIES VEGETAIS SELECIONADAS

2.1 Dor

O conceito de dor apresenta variações quando considerado dentro de uma perspectiva histórica e cultural (BERNACCHIO et al., 2005). A ideia de que a dor é uma experiência sensorial e essencial à vida, sendo inclusive classificada por muitos como o quinto sinal vital, é relativamente recente (FREITAS et al., 2009). A sensação dolorosa e sofrimento foram por muito tempo inseparáveis sendo até em algumas culturas socialmente tidos como castigos merecidos pela provocação da cólera dos deuses ou ira divina, e ainda martírios necessários para a purificação e a salvação da alma (PINHEIRO, 2007).

Atualmente, sabe-se que a sensação de dor é uma experiência necessária, funcionando como um mecanismo de alerta do organismo que indica a presença de um estímulo lesivo e que aciona respostas protetoras apropriadas (FREITAS et al., 2009; JULIUS; BASBAUM, 2001). Enquanto esta definição relaciona a dor com mudanças objetivas, a Associação Internacional para o Estudo da Dor (IASP) inclui alguns elementos de subjetividade, descrevendo a dor como uma experiência sensorial e emocional desagradável associada a uma lesão tecidual real ou potencial (SOUZA; DA SILVA, 2005). Portanto, para IASP, a junção de componentes fisiológicos e emocionais é que permite aos seres humanos o entendimento da dor. No entanto, em animais avalia-se a dor de forma indireta, estudando apenas sua manifestação neurofisiológica, a qual se denominada nocicepção (SENGUPTA, 2009).

O funcionamento adequado do sistema nociceptivo é essencial para proteger o organismo de danos teciduais. Entretanto, sob condições patológicas, este sistema se torna sensibilizado e a dor transforma-se em uma doença (ZEILHOFER, 2005). Nesta condição, quando a sensação dolorosa persiste por tempo maior que o necessário, existe uma diminuição drástica da qualidade de vida dos seus portadores o que causa reações emocionais negativas e debilitantes, sendo o alívio da dor compreendido como um direito humano básico (FREITAS et al., 2009).

De uma forma mais detalhada, a nocicepção pode ser definida como um processo pelo qual estímulos nocivos são detectados por uma subpopulação de

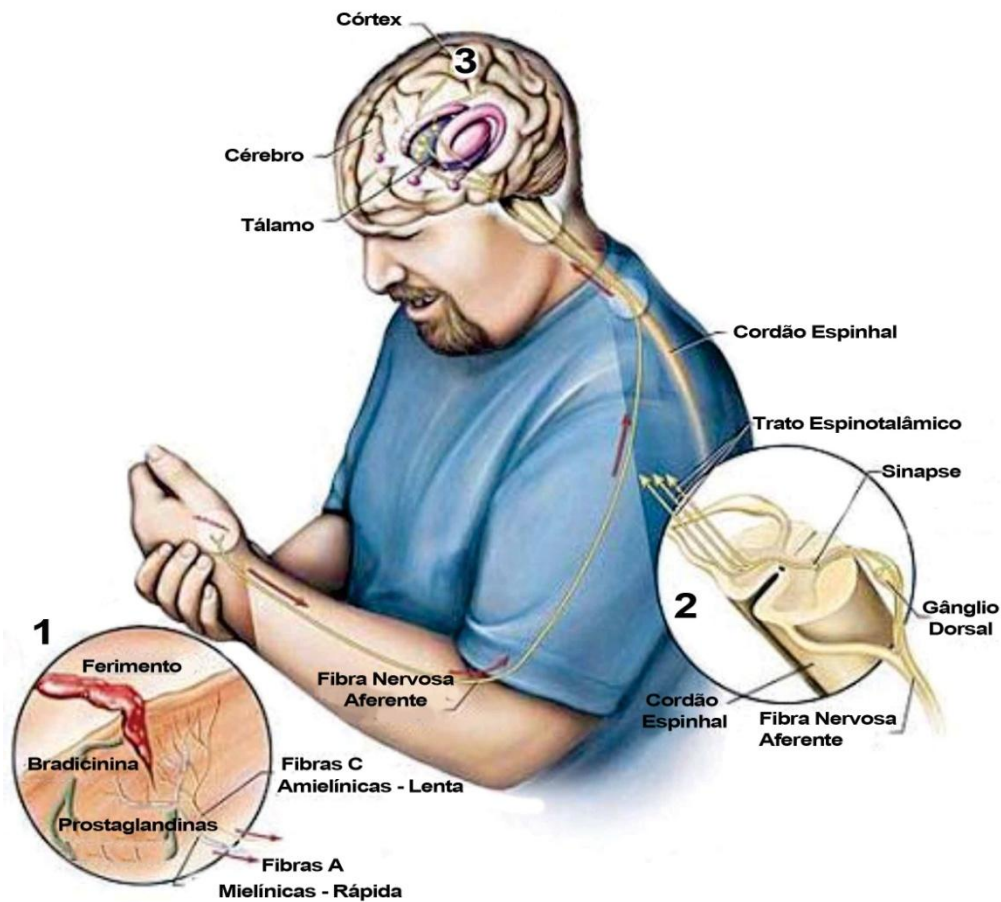
fibras nervosas periféricas, chamadas nociceptores (BASBAUM et al., 2009). Estes nociceptores são extremamente heterogêneos, diferindo-se uns dos outros pelos tipos de neurotransmissores utilizados, vias de sinalização, velocidade de condução, e sua capacidade de serem sensibilizados durante a inflamação (STUCKY; GOLD; ZHANG, 2001).

Existem dois principais tipos de fibras relacionadas à nocicepção. O primeiro inclui as fibras C amielinizadas de pequeno diâmetro, cuja velocidade de transmissão do estímulo nocivo é lenta e o segundo engloba fibras mielinizadas ($A\delta$) de diâmetro médio e de velocidade de condução mais rápida (JULIUS; BASBAUM, 2001; WOOLF; MA, 2007). Essas fibras aferentes diferem consideravelmente das fibras de grande diâmetro ($A\beta$) que utilizam a condução rápida para responder à estimulação mecânica inócua (BASBAUM et al., 2009).

A estimulação dos nociceptores periféricos faz com que a informação nociceptiva seja levada por meio das fibras aferentes até o sistema nervoso central (Figura 1, p. 26). Os longos axônios das fibras nociceptivas estendem-se de seus corpos celulares, reunidos no gânglio da raiz dorsal. Após emergir de seu corpo celular, o axônio aferente primário bifurca-se para enviar prolongamentos concomitantemente à medula espinhal e aos tecidos corporais. No córtex cerebral essa informação é percebida e processada para desencadear a sensação de dor (MILLAN, 1999; WOOLF; SALTER, 2000).

Quanto à duração, a sensação dolorosa pode ser classificada em transitória, aguda (sintoma de alguma doença) e crônica (doença propriamente dita, sendo nociva e independente ao estímulo que a gerou). Na forma transitória, a ativação dos nociceptores é feita na ausência de qualquer dano tecidual, enquanto que na aguda está associada com uma lesão tecidual recente. Nesta situação, a ativação de nociceptores pode desaparecer até mesmo antes da cura do dano tecidual. Por outro lado, a forma crônica pode se perpetuar por meses ou anos, e tem como característica a persistência e alterações adaptativas, o que muitas vezes dificulta o tratamento (PARK; VASKO, 2005; KLAUMANN; WOUK; SILLAS, 2008).

Figura 1 - Representação geral evidenciando a percepção da dor.



Fonte: Autor, 2012. Adaptado de <http://extremos-biobio.blogspot.com/2009/11>.

Quanto à origem, a dor pode ser classificada em: a) nociceptiva, quando relacionada à estimulação excessiva dos nociceptores localizados na pele, vísceras e outros tecidos; b) neurogênica quando reflete dano direto sobre tecido neuronal na periferia ou no sistema nervoso central (SNC); c) neuropática quando há disfunção ou dano de um nervo ou grupo de nervos, resultando em quadro algico; d) psicogênica quando a dor não é proveniente de fonte somática identificável e pode refletir fatores psicológicos; e) inflamatória - considerada o maior problema clínico por revelar dano tecidual, sendo geralmente mais persistente e acompanhada de inflamação. Nestas circunstâncias, geralmente ocorre quadro de hipersensibilidade causado pela ativação e sensibilização dos nociceptores periféricos desencadeada por mediadores químicos (DRAY, 1997; MILLAN, 1999; McMAHON; CAFFERTY; MARCHAND, 2005).

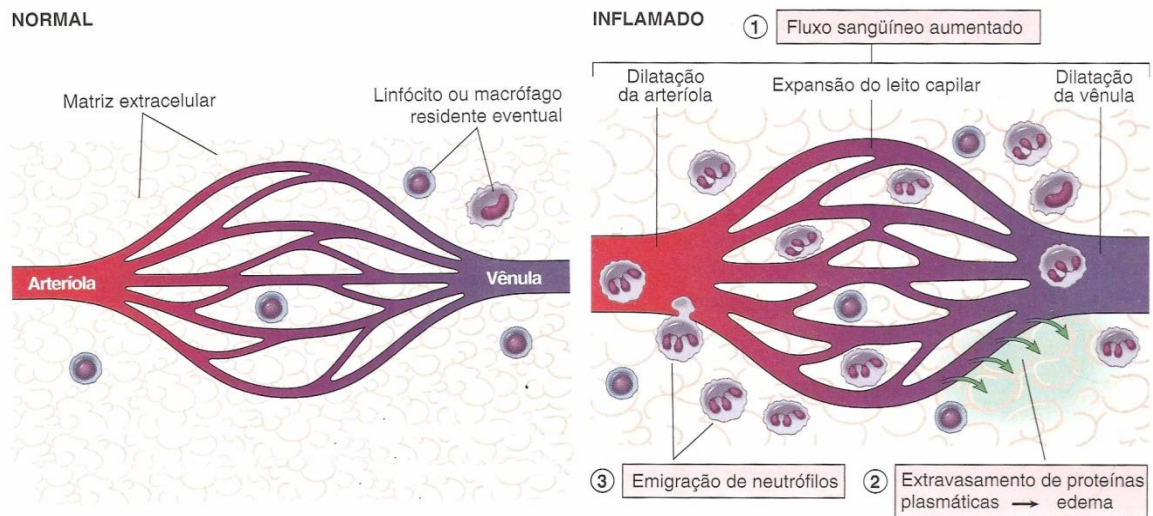
2.2 Inflamação

A inflamação é essencial para a manutenção da saúde dos indivíduos, pois é uma resposta de proteção do organismo, cujo objetivo é eliminar a causa inicial da lesão bem como as células e tecidos necróticos que resultam do insulto original. Sem a inflamação, as infecções prosseguiriam sem controle e as feridas jamais cicatrizariam. No entanto, os processos subsequentes de reparo podem causar danos consideráveis (KUMAR et al., 2008). Nos casos de lesão tecidual, como por exemplo, em traumas mecânicos, invasão por agentes infecciosos, ou ainda, devido à ação de substâncias nocivas, o organismo aciona mecanismos cujo propósito é limitar os danos e auxiliar a regeneração (GALLIN et al., 1982). Esses mecanismos fazem parte da resposta inflamatória, que clinicamente é caracterizada pelo calor, rubor, edema, dor, e em alguns casos, pode acometer perda da função do membro ou órgão afetado (RANG et al., 2007).

Normalmente, a inflamação pode ser classificada em aguda ou crônica de acordo com as características morfológicas observadas. A resposta de fase aguda é de curta duração e, além de uma reação local, ocorre também uma reação sistêmica. As principais características da reação local são desencadeadas após liberação/ação inúmeros mediadores pró-inflamatórios que resultam em vasodilatação, aumento da permeabilidade vascular resultando na exsudação (edema), na migração de leucócitos (predominantemente neutrófilos) (Figura 2, p. 28). Por outro lado, a inflamação crônica tem duração mais longa e está relacionada com algumas alterações histológicas, como a presença de linfócitos e macrófagos, proliferação de vasos sanguíneos, fibrose e necrose tecidual. A inflamação termina quando o estímulo é eliminado e os mediadores secretados são destruídos ou dispersos (GRUNDY, 2003; GABAY, 2006; RANG et al., 2007).

De um modo geral, a dor em um processo inflamatório aparece devido aos efeitos diretos de mediadores resultantes tanto do dano inicial quanto da resposta inflamatória em si, como pela compressão dos nervos sensoriais ocasionada pelo edema local (FLOWER; PERRETTI, 2005; VIVIER; MALISSEN, 2005).

Figura 2 - As principais manifestações locais da inflamação aguda, comparadas ao normal.



Fonte: KUMAR et al., 2008.

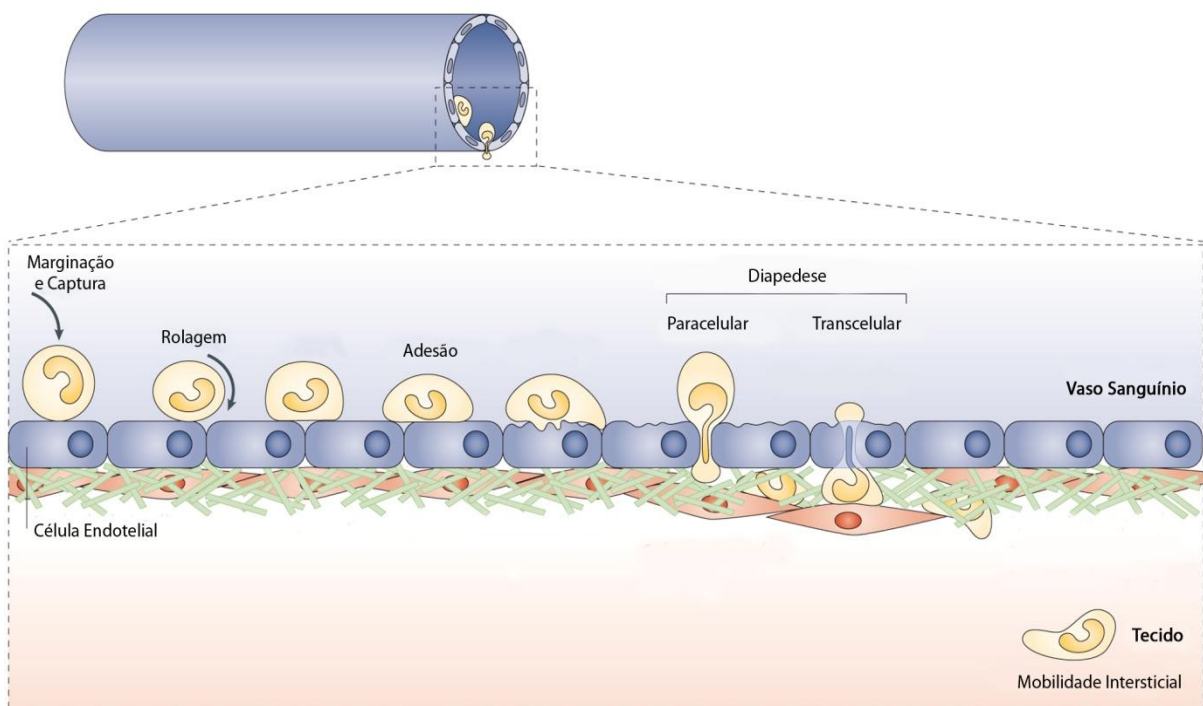
As reações vasculares e celulares da inflamação são mediadas por fatores químicos derivados do plasma ou de células residentes que são produzidos ou ativados pelo estímulo inflamatório. Esses mediadores agem isoladamente, em conjunto ou em sequência, amplificando a resposta inflamatória e influenciando sua evolução (TREPPELS; ZEIHNER; FICHTLSCHERER, 2006).

O rápido recrutamento de leucócitos para o foco inflamatório é um importante fenômeno atribuído à vasodilatação e ao extravasamento plasmático. Para que ocorra esta mobilização é necessário que exista ativação endotelial, bem como a secreção de mediadores de natureza química diversificada, incluindo lipídeos (eicosanoides), radicais livres e proteínas (citocinas e quimiocinas). Entre as citocinas mais conhecidas estão o fator de necrose tumoral (TNF-alfa) e um grupo de citocinas quimioatraentes chamadas quimiocinas. Dentre suas diversas funções na resposta inflamatória, o TNF-alfa tem destaque na ativação endotelial por estimular a expressão de moléculas de adesão, o que contribui para a adesão e recrutamento de leucócitos para o sítio da lesão (SHERWOOD; TOLIVER-KINSKY, 2004; ALWANI et al., 2006; KUMAR et al., 2008).

O endotélio vascular quando ativado contribui diretamente para o extravasamento de leucócitos do sangue para o tecido através da interação entre moléculas de adesão celular (MEDZHITOV, 2008). A transmigração de neutrófilos

(Figura 3, p. 29) ocorre após marginação (movimentação do neutrófilo do centro para a periferia do vaso), rolamento (desaceleração do neutrófilo através da ligação com moléculas de adesão chamadas selectinas), adesão e diapedese (o neutrófilo atravessa o endotélio através de junções entre as células - paracelular – ou pelo citoplasma da célula – transcelular) (MARSHALL et al., 2003; NOURSHARGH; HORDIJK; SIXT, 2010).

Figura 3 - Migração de leucócitos para alcançar o foco inflamatório.



Fonte: Autor, 2012. Adaptado de NOURSHARGH; HORDIJK; SIXT, 2010.

Quando os neutrófilos atingem o foco inflamatório tentam eliminar o agente agressor liberando o conteúdo tóxico de seus grânulos, os quais incluem espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, proteinases, catepsinas, elastases, mieloperoxidase, entre outros. Uma resposta inflamatória aguda bem sucedida resulta na eliminação da agressão seguida pela fase de resolução e reparo, da qual participam outras células, incluindo macrófagos residentes e recrutados (MEDZHITOV, 2008)

Do ponto de vista clínico, um dos aspectos mais problemáticos da inflamação é a possibilidade da progressão de um estado agudo para um estado mais

prologando, podendo desta forma, aumentar a susceptibilidade de instalação de um quadro inflamatório crônico, onde a inflamação perde sua característica de proteção e torna-se uma patologia (GABAY, 2006; KUMAR et al., 2008).

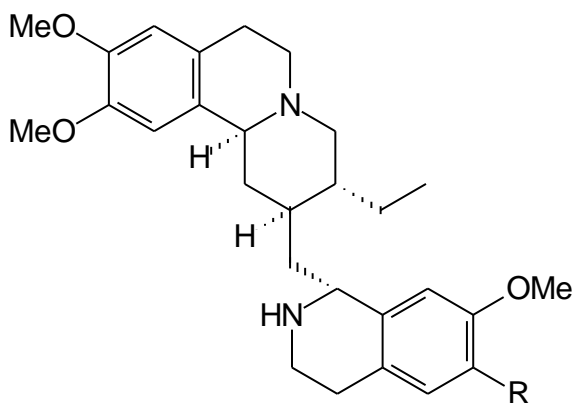
A atual farmacoterapia das doenças de base inflamatória tem por base o controle das manifestações clínicas, visando o controle principalmente dos eventos fisiopatológicos iniciados com a exposição ao agente agressor. Como o objetivo do tratamento é minimizar os danos da resposta inflamatória, devem-se levar em consideração os efeitos colaterais, os custos e as interações medicamentosas. Em consequência deste modelo de tratamento, os efeitos colaterais causados pelos fármacos individuais ou decorrentes de interações proporcionam uma baixa adesão do paciente até o término do protocolo terapêutico. Com isso, novas estratégias analgésicas/anti-inflamatórias, mais acessíveis e que proporcionem maior adesão ao tratamento são de interesse para o controle e prevenção de diversas doenças (McGEER; McGEER, 1995; HANSSON, 2005; HANAUER, 2006).

2.3 Família Rubiaceae

A família Rubiaceae é composta por 650 gêneros e cerca 13.000 espécies representando a quarta maior família do grupo das Angiospermas. Geralmente, são plantas tropicais de hábitos bastante variados desde ervas, arbustos, subarbustos, árvores de grande, médio e pequeno porte e até trepadeiras (MONGRAND et al., 2005; MARGALHO, ROCHA e SECCO, 2009). De acordo com a classificação de ROBBRECHT (1988; 1993), esta família está dividida em quatro subfamílias (Cinchonoideae, Ixoroideae, Rubioideae e Antirheoideae), correspondendo a cerca de 50 tribos. No entanto, há poucas evidências moleculares, morfológicas e químicas que suportem a existência da subfamília Antirheoideae (MONGRAND et al., 2005).

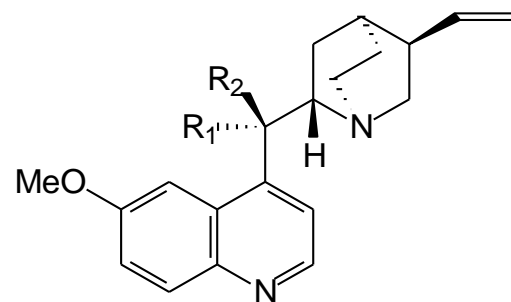
No Brasil, a família Rubiaceae está representada por 18 tribos, 130 gêneros e mais de 1.500 espécies, distribuídas em diferentes formações vegetais, com grande ocorrência na Mata Atlântica (PEREIRA; CARVALHO-OKANO; GARCIA, 2006; MARGALHO; ROCHA; SECCO, 2009). Várias espécies desta família são reconhecidas por sua importância socio-econômica, principalmente como fontes de alimentos como o café (*Coffea arabica*). Além disso, esta família destaca-se como fonte de moléculas biologicamente ativas como o alcaloide emetina (**3**) que possui

ação expectorante e amebicida, além da cefalina (**4**) eméticos isolados de *Psychotria ipecacuanha*, uma planta originária do Brasil (GARCIA et al., 2005). Do gênero *Cinchona* são isolados a quinina (**5**) e quinidina (**6**) que até hoje são prescritas para o tratamento da malária e arritmias cardíacas (HENRIQUES et al., 2007). Extratos de diversas espécies são utilizados na produção de fitoterápicos, como a unha de gato (*Uncaria tomentosa*) indicada no tratamento de diversos tipos de inflamações (PILARSKI et al., 2010), e em cerimônias religiosas como no caso de *Psychotria viridis* presente na produção da bebida *Ayahuasca* (MOURA et al., 2010). Espécies de Rubiaceae são bastante apreciadas, ainda, como plantas ornamentais (*Ixora coccinea*) (ALMEIDA et al., 2008), na fabricação de perfumes (*Gardenia jasminoides*) e na obtenção de corantes como no caso da *Rubia tinctorum*, utilizada desde antiguidade no tingimento de tecidos, de onde se obtêm as antraquinonas alizarina (**7**) e purpurina (**8**) (SERRANO; LOPES; SERUYA, 2008).



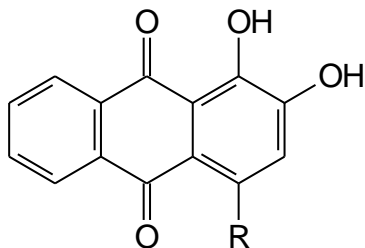
3 R = OMe

4 R = OH



5 R₁ = H; R₂ = OH

6 R₁ = OH; R₂ = H



7 R = H

8 R = OH

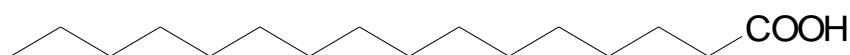
Dentre as classes de compostos identificados na família Rubiaceae estão os alcaloides, iridoides (LOPES et al., 2004), cumarinas, derivados do ácido benzoico (CHOZE; DELPRETE; LIÃO, 2009), antraquinonas (LING et al., 2002), triterpenos e esteroides (LIMA et al., 2009). Destas, alcaloides, iridoides e triterpenos ganham destaque pela sua abundância na família e diversidade de efeitos biológicos (LOPES et al., 2004; LIMA, 2008).

2.4 O Gênero *Sabicea*

O gênero *Sabicea*, cujo nome deriva do fato da espécie *S. aspera* Aubl., ser conhecida pelos índios Galibis da Guiana por “Sabi-Sabi” ou “áspero”, mostra-se como o mais numeroso da tribo Sabiceae (subfamília Ixoroideae), sendo composto por 146 espécies de arbustos escandentes e trepadeiras. Este gênero foi descrito em 1775 por Aublet, na obra “Plantae Guianenses” onde foram identificadas as espécies *S. cinerae* Aubl. e *S. aspera* Aubl. (WERHNAM, 1914). Existem dois principais centros de diversidade, a África continental (82 espécies) e a região neotropical (54 espécies) (KHAN et al., 2008). O Brasil é o país neotropical que apresenta o maior número de representantes, com 17 espécies (Tabela 1, p. 33). Destas, quatro são endêmicas (*S. brasiliensis* Wernham, *S. burchellii* Wernham, *S. grisea* Cham. & Schltdl. e *S. trailii* Wernham).

Plantas deste gênero tem sido utilizadas na medicina popular para o tratamento de diversas moléstias como febre, vômito, insônia (VALADEAU et al., 2010), epilepsia (AWARD et al., 2009), dor de estômago, disenteria e malária (ROUMY et al., 2007) e reumatismo (CABALLERO-GEORGE; GUPTA, 2011). Na região de Vaupés, na Colômbia, a espécie *S. amazonensis* Wernham é adicionada a *Ayahuasca* para dar um sabor mais adocicado à bebida (POMILIO et al., 1999).

Do ponto de vista fitoquímico, o gênero *Sabicea* é praticamente inexplorado. Até o momento, foi encontrada somente uma investigação com a espécie *S. calycina*, que se limitou a informar a presença de alguns ácidos de cadeia longa, sobretudo, os ácidos palmítico (**9**), linoleico (**10**) e α -linoelênico (**11**) (MONGRAND et al., 2005).



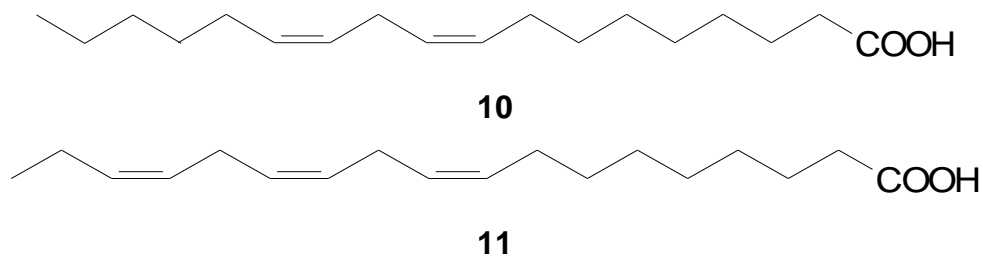


Tabela 1 - Espécies do gênero *Sabicea* encontradas no Brasil.

Espécie	Unidade Federativa
<i>S. amazonenses</i> Wernham	Amazonas e Roraima.
<i>S. aspera</i> Aubl.	Amapá, Amazonas, Maranhão, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Pará e Rondônia
<i>S. brasiliensis</i> Wernham	Bahia, Distrito Federal, Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, São Paulo Pernambuco, Rio de Janeiro e Tocantins
<i>S. burchellii</i> Wernham	Mato Grosso, Pará e Tocantins
<i>S. calophylla</i> Asplund	Amazonas
<i>S. cinerea</i> Aubl.	Alagoas, Bahia, Paraíba e Pernambuco
<i>S. grisea</i> Cham. & Schldl.	Alagoas, Bahia, Ceará (var. <i>ceara</i>), Paraíba, Pernambuco, Rio de Janeiro e São Paulo
<i>S. humilis</i> S. Moore	Amazonas, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e Minas Gerais
<i>S. mattogrossensis</i> Wernham	Acre, Amapá, Amazonas, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e Rondônia
<i>S. mollissima</i> Benth. ex Wernham	Amapá, Amazonas e Pará
<i>S. oblongifolia</i> (Miq.) Steyererm.	Pará
<i>S. panamensis</i> Wernham	Amazonas e Pará
<i>S. parva</i> Wernham	Amazonas e Roraima
<i>S. tloriae</i> Rusby ex Liede	Acre
<i>S. traillii</i> Wernham	Pará
<i>S. velutina</i> Benth.	Roraima
<i>S. villosa</i> Willd. ex Roem. & Schult.	Acre, Amazonas, Bahia, Minas gerais, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul, Paraná, Rio de Janeiro, Rondônia, Santa Catarina e São Paulo

A espécie *S. grisea* (Figura 4, p. 34), um arbusto escandente, é bastante distribuída no território brasileiro, existindo na forma de duas variedades a *grisea* e a *ceara*. A primeira é encontrada desde os estados de São Paulo até a Paraíba e a segunda é endêmica somente do estado do Ceará. Apesar de WERHNAM (1914) relatar a presença de *S. grisea* no Paraguai, onde esta seria a única representante do gênero neste país, KHAN (2007) e ZAPPI e PESSOA (2010) a consideram uma planta endêmica brasileira, já que em estudos recentes não foi encontrado nenhum registro de *S. grisea* no Paraguai.

Figura 4 - Foto de *Sabicea grisea* Cham. & Schltl. var. *grisea*.



Fonte: Autor, 2012.

2.5 O Gênero *Psychotria*

O gênero *Psychotria* (subfamília Rubioideae) compreende aproximadamente 2000 espécies, representadas por arbustos, pequenas árvores, ervas e raramente por epífitas. Estas espécies encontram-se distribuídas em florestas tropicais e subtropicais de todo mundo, sendo a bacia amazônica considerada o principal centro de distribuição. Dentro da família Rubiaceae, este gênero é o maior e é conhecido por possuir espécies produtoras de alcaloides bioativos (MUHAMMAD et al., 2003; MORAES et al., 2011).

Dificuldades na delimitação de suas fronteiras, tem tornado o gênero *Psychotria* de taxonomia complexa, sendo motivo de grande celeuma e controvérsia entre alguns autores que o tem relacionado estreitamente aos gêneros *Palicourea*, *Cephaelis* e *Carapichea*. O primeiro estudo sistemático ocorreu em 1891, com a caracterização por Schurmann do gênero *Psychotria*, que o separou de *Palicourea* (FARIAS, 2006). ROBBRECHT (1988) considerou *Psychotria* e *Cephaelis* como dois gêneros distintos, enquanto TAYLOR (2010) inclui a maior parte das espécies de *Cephaelis* em *Psychotria* e *Palicourea*, já ANDERSSON (2002) inclui algumas espécies de *Cephaelis* e *Psychotria* no gênero *Carapichea*.

A utilização de sistemas biogeográficos florísticos e/ou faunísticos tem auxiliado botânicos e zoologistas para melhor compreensão de seus estudos. A divisão florística mais utilizada é a de TAKHTAJAN (1986), que fragmenta o mundo em seis reinos: *i*) Holártico (inclui América do Norte, Europa, extremo norte da África e a parte não tropical da Ásia); *ii*) Paleotropical (inclui a parte tropical da África, Ásia e Oceania, com exceção da Austrália e Nova Zelândia); *iii*) Neotropical (inclui a América Central, incluindo extremo sul do México e da Flórida, todas as ilhas do Caribe e América do Sul, com exceção da região da Patagônia); *iv*) Capense (inclui o extremo sudoeste da África, conhecida como região do Cabo); *v*) Australiano (inclui a Austrália, Tasmânia e pequenas ilhas adjacentes) e *vi*) Antártico (inclui as regiões temperadas e frias do hemisfério sul, desde Nova Zelândia, passando por todas as Ilhas do sul dos Oceanos Atlântico e Índico, até o extremo sul da América do Sul).

A presença do gênero *Psychotria* tem sido observada apenas nos reinos Paleotropical, Neotropical e Capense. Devido a complexidade taxonômica, estudos abordando características morfológicas e moleculares, além da distribuição geográfica, vêm permitindo dividir o gênero *Psychotria* em três subgêneros: *Psychotria* (pantropical), *Tetramerae* (inclui espécies da África e Madagascar) e *Heteropsychotria* (inclui espécies de *Psychotria* neotropicais) (NEPOKROEFF; BREMER; SYTSMA, 1999; TAYLOR, 2006).

No Brasil, o gênero *Psychotria* é bastante difundido sendo encontrado espécies em todas as regiões brasileiras (ELISABETSKY et al., 1995; ALMEIDA; ALVES, 2000; LOPES et al., 2004; FARIA et al., 2010; PIMENTA et al., 2010a). Em Alagoas, há ocorrência de 13 espécies: *P. bahiensis* Müll. Arg., *P. barbiflora* DC., *P. bracteocardia* (DC.) Müll. Arg., *P. capitata* Ruiz & Pau., *P. carthagenensis* Jacq.,

P. colorata (Roem. & Schult.) Müll. Arg., *P. cupularis* (Müll. Arg.) Standl., *P. deflexa* DC., *P. Hoffmannseggiana* (Wild. ex Roem. & Schult.) Müll. Arg., *P. iodotricha* Müll. Arg., *P. leiocarpa* Cham. & Schldl., *P. platypoda* A. DC., *P. racemosa* (Aubl.) Raeusch (LEMOS et al., 2010). A espécie *P. barbiflora* (Figura 5, p. 36), objeto deste estudo, é um subarbusto (0,5-2,0 m alt.) encontrado entre o sul e nordeste brasileiro, com período de floração entre abril e julho, e frutificação de junho a setembro (TEIXEIRA; MACHADO, 2004). Até o momento, pouco se sabe sobre sua composição química, existindo um único trabalho que indica a presença do cromóforo indólico (LOPES et al., 2004).

Figura 5 - Foto de *Psychotria barbiflora* DC.

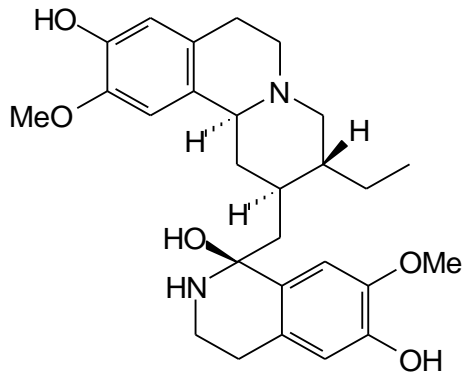


Fonte: Autor, 2012.

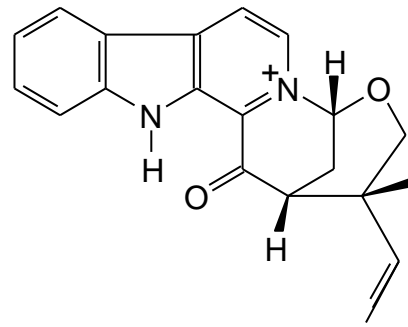
2.5.1 Uso Etnobotânico, Atividades Farmacológicas e Alcaloides de *Psychotria*

Espécies de *Psychotria* têm sido utilizadas na medicina popular de vários países para o tratamento das mais variadas moléstias, tais como infecções do sistema reprodutivo feminino, menstruação excessiva, cólicas, complicações na gravidez, gonorréia, epilepsia, bronquite, distúrbios gastrointestinais e oculares, irritações na pele, tumores, úlceras, malária, e diversos tipos de inflamações (DUNSTAN et al., 1997; LUBINI et al., 2008; KHAN; KIHARA; OMOLOSO, 2001; AWARD et al., 2009; KATO et al., 2012). No estado do Pará, a espécie *P. colorata* (Willd ex R. & S.) Müll. Arg., conhecida como “Perpétua do Mato” é utilizada por caboclos para o tratamento de dor de ouvido e para dor abdominal. Crioulos e índios Wayapi da Guiana Francesa utilizam as flores de *P. poeppigiana* Müll. Arg. como analgésico, já os índios Palikur usam como supressor de tosse (ELISABETSKY et al., 1995). Na América do Sul e em outras regiões do planeta existem vários relatos científicos que reportam diversas atividades farmacológicas de espécies de *Psychotria*, merecendo destaque a atividade antibacteriana, antiviral/antifúngica, anti-inflamatória (McGAW; JAGER; VAN STADEN, 2000), anti-helmíntica, antiamebíca e analgésica (KUO et al., 2001; PORTO; HENRIQUES; FETT-NETO, 2009).

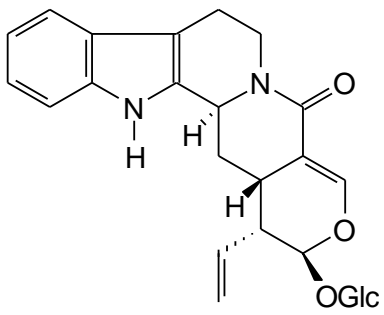
A presença de alcaloides bioativos em espécies de *Psychotria* tem gerado grande interesse (AMADOR et al., 2001). O alcaloide klugina (**12**) isolado de *P. klugii* Standl., por exemplo, apresentou potente atividade antimalárica frente ao *Plasmodium falciparum*. A cefalina (**4**) isolada das espécies *P. klugii* e *P. ipecacuanha* (Brot.) Stokes, além de ativo como amebecida, apresentou efeito antiparasitário contra a *Leishmania donavani* e 14-oxoprufoleína (**13**) e strictosamida (**14**) exibiram atividade frente ao protozoário *Leishmania amazonensis* (MUHAMMAD et al., 2003; KATO et al., 2012). A hodgkinsina (**15**) e psicotridina (**16**) isolados de *P. colorata* apresentaram efeitos em modelos térmicos e químicos de analgesia, sendo tais efeitos dependentes de receptores opioides e glutamatérgicos do tipo N-metil-D-aspartato – NMDA, respectivamente (AMADOR et al., 2000; AMADOR et al., 2001).



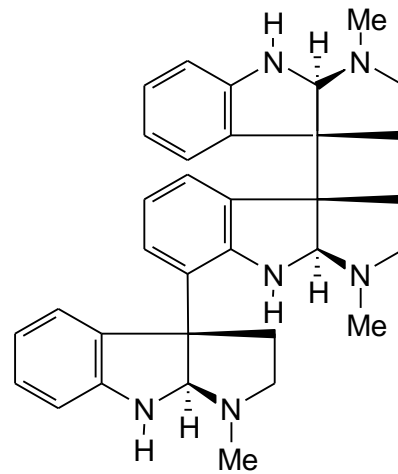
12



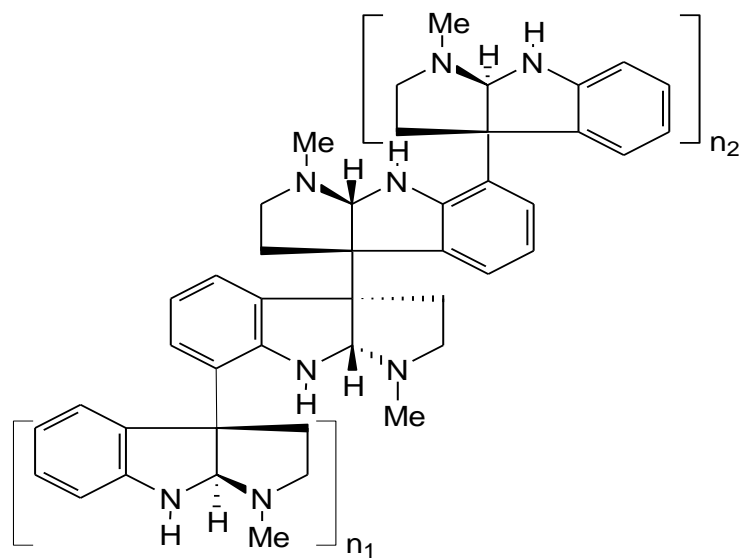
13



14

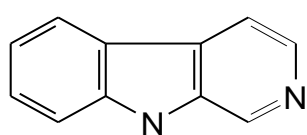


15

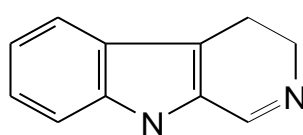
16 $n_1 = 1, n_2 = 2$ ou $n_1 = 2, n_2 = 1$

Diversas investigações fitoquímicas realizadas com espécies de *Psychotria* revelaram a presença de vários alcaloides (Tabelas 2-3, pp. 39-57), principalmente do tipo indol-monoterpênicos, indol-polipirrolidínicos, isoquinolínicos, quinolínicos e β -carbolínicos (MUHAMMAD et al., 2003; KATO et al., 2012). Em grande parte destes alcaloides foi observada a presença do esqueleto β -carbolínico (Figura 6, p. 39).

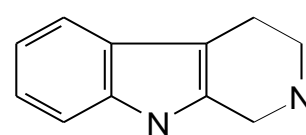
Figura 6 - Tipos de esqueleto β -carbolínico



β -carbolínico



Diidro- β -carbolínico



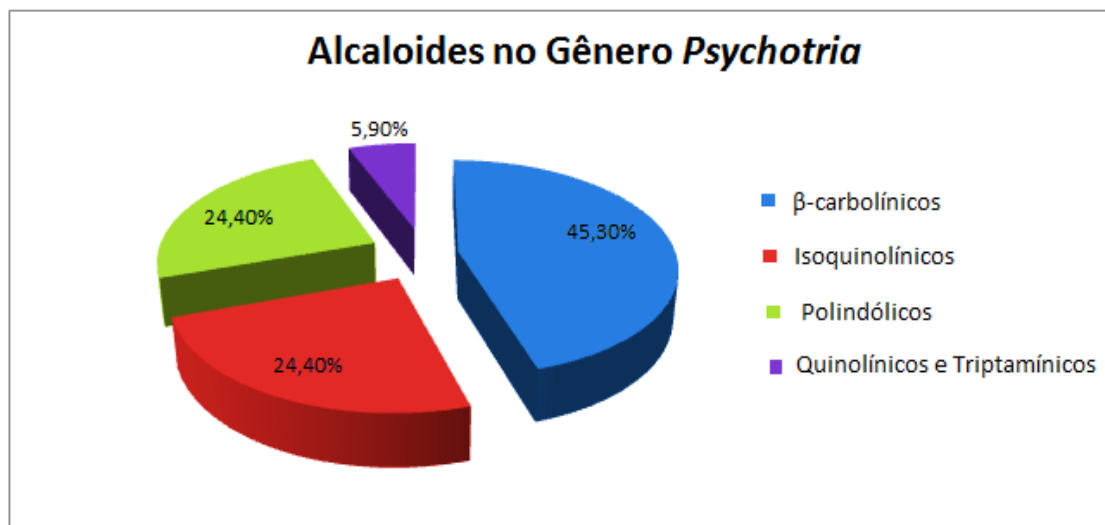
Tetraidro- β -carbolínico

Fonte: Autor, 2012.

Em consequência da presença marcante de alcaloides no gênero *Psychotria*, efetuou-se uma revisão bibliográfica desta classe de compostos descritos no gênero. Foram efetuados levantamentos no Chemical Abstract Service (utilizando a ferramenta SciFinder), Science Direct; Web of Science, Scopus, PubMed e em outros periódicos especializados sobre o gênero *Psychotria* e alcaloides.

Com o objetivo de facilitar a análise dos dados os alcaloides foram divididos em dois grupos. O primeiro descreveu os alcaloides isoquinolínicos, quinolínicos, poli-indólicos (que envolvem os indol-polipirrolidínicos e seus derivados) e triptamínicos (3-4; 12; 15-59) (Tabela 2, pp. 41-48) e o segundo apresentou os alcaloides que possuem o esqueleto β -carbolínico (indol-monoterpênicos e β -carbolínicos) (13-14; 60-97) (Tabela 3, pp. 55-59). Esta revisão bibliográfica permitiu identificar 86 diferentes estruturas de alcaloides, em 28 espécies de *Psychotria*, sendo observada, principalmente, a presença de β -carbolínicos, isoquinolínicos e polindólicos (Figura 7, p. 40).

Figura 7 - Perfil dos tipos de alcaloides relatados em espécies do gênero *Psychotria*



Fonte: Autor, 2012.

Tabela 2 - Alcaloides isoquinolínicos, quinolínicos, poli-indólicos e triptamínicos descritos em espécies de *Psychotria*.

Alcaloides	Espécie	Parte da Planta (País de Coleta)	Referências
Emetina (3)	<i>P. ipecacuanha</i> (Brot.) Stokes	Raízes (Brasil)	GARCIA et al., 2005
	<i>P. borucana</i> (A.R. Molina) C.M. Taylor & W. Burger ^a	Raízes (Costa Rica)	BERNHART et al., 2011
Cefalina (4)	<i>P. klugii</i> Standl.	Cascas do caule (Peru)	MUHAMMAD et al., 2003
	<i>P. ipecacuanha</i> (Brot.) Stokes	Raízes (Brasil)	GARCIA et al., 2005
	<i>P. borucana</i> (A.R. Molina) C.M. Taylor & W. Burger ^a	Raízes (Costa Rica)	BERNHART et al., 2011
Klugina (12)	<i>P. klugii</i> Standl.	Cascas do caule (Peru)	MUHAMMAD et al., 2003
Hodkinsina (15)	<i>P. oleoides</i> Schlecht.	Folhas (Nova Caledônia)	LIBOT et al., 1987; GUÉRITTE-VOEGELEIN et al., 1992; JANNIC et al., 1999
	<i>P. rostrata</i> Blume	Caule e Galhos (Malásia)	LAJIS; MAHMUD; TOIA, 1993
	<i>P. colorata</i> (Willd ex R. & S.) Müll. Arg	Flores (Brasil)	VEROTTA et al., 1998
	<i>P. forsteriana</i> A. Gray	Folhas (Vanuato)	ROTH et al., 1985

Tabela 2 (Continua)

Tabela 2 (Continuação)

	<i>P. lyciiflora</i> Schlecht.	Folhas (Nova Caledônia)	JANNIC et al., 1999
	<i>P. muscosa</i> Jacq.	Folhas (Brasil)	VEROTTA et al., 1999
	<i>P. malayana</i> Jack.	Folhas (Indonésia)	HADI; BREMNER, 2001
Psicotridina (16)	<i>P. beccarioides</i> Wernh.	Folhas Papua Nova Guiné	HART et al., 1974
	<i>P. forsteriana</i> A. Gray	Folhas (Vanuato)	ROTH et al., 1986
	<i>P. oleoides</i> Schlecht	Folhas (Nova Caledônia)	LIBOT et al., 1987; GUÉRITTE-VOEGELEIN et al., 1992; JENNIC et al., 1999
	<i>P. colorata</i> (Willd ex R. & S.) Müll. Arg.	Folhas (Brasil)	VEROTTA et al., 1999
Alangesídeo (17)	<i>P. ipecacuanha</i> (Brot.) Stokes ^b	Raízes (Costa Rica)	ITOH; TANAHASHI; NAGAKURA, 1991; ITOH et al., 1994
Desmetilalangesídeo (18)	<i>P. ipecacuanha</i> (Brot.) Stokes ^b	Raízes (Costa Rica)	ITOH; TANAHASHI; NAGAKURA, 1991
3-O-Desmetil-2-O-metil- alangesídeo (19)	<i>P. ipecacuanha</i> (Brot.) Stokes ^b	Raízes (Costa Rica)	ITOH et al., 1994
Isocefalina (20)	<i>P. klugii</i> Standl.	Cascas do caule (Peru)	MUHAMMAD et al., 2003

Tabela 2 (Continua)

Tabela 2 (Continuação)

7'-O-Desmetilisocefalina (21)	<i>P. klugii</i> Standl.	Cascas do caule (Peru)	MUHAMMAD et al., 2003
<i>cis</i> -Cefalosídeo (22)	<i>P. ipecacuanha</i> (Brot.) Stokes ^b	Raízes (Costa Rica)	NAGAKURA; ITOH; TANAHASHI, 1993
6-O-Metil- <i>cis</i> -Cefalosídeo (23)	<i>P. ipecacuanha</i> (Brot.) Stokes ^b	Raízes (Costa Rica)	NAGAKURA; ITOH; TANAHASHI, 1993
<i>trans</i> -Cefalosídeo (24)	<i>P. ipecacuanha</i> (Brot.) Stokes ^b	Raízes (Costa Rica)	NAGAKURA; ITOH; TANAHASHI, 1993
6-O-Metil- <i>trans</i> -Cefalosídeo (25)	<i>P. ipecacuanha</i> (Brot.) Stokes ^b	Raízes (Costa Rica)	NAGAKURA; ITOH; TANAHASHI, 1993
	<i>P. borucana</i> (A.R. Molina) C.M. Taylor & W. Burger ^a	Raízes (Costa Rica)	BERNHART et al., 2011
Borucosídeo (26)	<i>P. borucana</i> (A.R. Molina) C.M. Taylor & W. Burger ^a	Raízes (Costa Rica)	BERNHART et al., 2011
Ipecosídeo (27)	<i>P. ipecacuanha</i> (Brot.) Stokes ^b	Raízes (Costa Rica)	ITOH; TANAHASHI; NAGAKURA, 1991
	<i>P. borucana</i> (A.R. Molina) C.M. Taylor & W. Burger ^a	Raízes (Costa Rica)	BERNHART et al., 2011
Ácido ipecosídico (28)	<i>P. ipecacuanha</i> (Brot.) Stokes ^b	Raízes (Costa Rica)	ITOH; TANAHASHI; NAGAKURA, 1991

Tabela 2 (Continua)

Tabela 2 (Continuação)

6-O-metilpecosídeo (29)	<i>P. ipecacuanha</i> (Brot.) Stokes ^b	Raízes (Costa Rica)	ITOH; TANAHASHI; NAGAKURA, 1991
	<i>P. borucana</i> (A.R. Molina) C.M. Taylor & W. Burger ^a	Raízes (Costa Rica)	BERNHART et al., 2011
7-O-metilpecosídeo (30)	<i>P. ipecacuanha</i> (Brot.) Stokes ^b	Raízes (Costa Rica)	ITOH et al., 1994
	<i>P. klugii</i> Standl.	Cascas do caule (Peru)	MUHAMMAD et al., 2003
Neoipecosídeo (31)	<i>P. ipecacuanha</i> (Brot.) Stokes ^b	Raízes (Costa Rica)	ITOH; TANAHASHI; NAGAKURA, 1991
7-O-metilneoipecosídeo (32)	<i>P. ipecacuanha</i> (Brot.) Stokes ^b	Raízes (Costa Rica)	ITOH; TANAHASHI; NAGAKURA, 1991
3,4-Des-hidro-neoipecosídeo (33)	<i>P. ipecacuanha</i> (Brot.) Stokes ^b	Raízes (Costa Rica)	ITOH; TANAHASHI; NAGAKURA, 1991
(-) Calicantina (34)	<i>P. forsteriana</i> A. Gray	Cascas do caule/Frutos (Vanuato)	ADJIBADE et al., 1992
	<i>P. rostrata</i> Blume	Caule e Galhos (Malásia)	LAJIS; MAHMUD; TOIA, 1993
	<i>P. colorata</i> (Willd ex R. & S.) Müll. Arg.	Flores (Brasil)	VEROTTA et al., 1998
	<i>P. muscosa</i> (Jacq.) Steyermark	Folhas (Brasil)	VEROTTA al., 1999

Tabela 2 (Continua)

Tabela 2 (Continuação)

Isocalicantina (35)	<i>P. forsteriana</i> A. Gray	Cascas do caule/Fruto (Vanuato)	ADJIBADE et al., 1992
	<i>P. colorata</i> (Willd ex R. & S.) Müll. Arg.	Flores (Brasil)	VEROTTA et al., 1998
(8, 8a), (8', 8'a)-Tetradés-hidro- isocalicantina 3a(R), 3'a(R) (36)	<i>P. colorata</i> (Willd ex R. & S.)Müll. Arg.	Flores (Brasil)	VEROTTA et al., 1998
	<i>P. muscosa</i> Jacq.	Folhas (Brasil)	VEROTTA et al., 1999
PML 300 [(8, 8a)-Di-des- hidroisocalicantina] (37)	<i>P. muscosa</i> Jacq.	Folhas (Brasil)	VEROTTA et al., 1999
Glomerulatina A (38)	<i>P. glomerulata</i> (Donn.Sm.) Steyerm	Partes aéreas (Panamá)	SOLÍS et al., 1997
Glomerulatina B (39)	<i>P. glomerulata</i> (Donn.Sm.) Steyerm	Partes aéreas (Panamá)	SOLÍS et al., 1997
Glomerulatina C (40)	<i>P. glomerulata</i> (Donn.Sm.) Steyerm	Partes aéreas (Panamá)	SOLÍS et al., 1997
Caledonina (41)	<i>P. oleoides</i> Schlecht.	Folhas (Nova Caledônia)	JANNIC et al., 1999
Isopsicotridina B (42)	<i>P. oleoides</i> Schlecht.	Folhas (Nova Caledônia)	JANNIC et al., 1999

Tabela 2 (Continua)

Tabela 2 (Continuação)

Oleoidina (43)	<i>P. oleoides</i> Schlecht.	Folhas (Nova Caledônia)	JANNIC et al., 1999
Quadrígemina I (44)	<i>P. oleoides</i> Schlecht.	Folhas (Nova Caledônia)	JANNIC et al., 1999
Calicosidina (45)	<i>P. rostrata</i> Blume	Caule e Galhos (Malásia)	LAJIS; MAHMUD; TOIA, 1993
Isopsicotridina A (46)	<i>P. oleoides</i> Schlecht.	Folhas (Nova Caledônia)	LIBOT et al., 1987
Isopsicotridina C (47)	<i>P. forsteriana</i> A. Gray	Folhas (Vanuato)	ROTH et al., 1986.
Psicoleína (48)	<i>P. oleoides</i> Schlecht	Folhas (Nova Caledônia)	GUÉRITTE-VOEGELEIN et al., 1992
Psicopentamina (49)	<i>P. rostrata</i> Blume	Folhas (Malásia)	TAKAYAMA et al., 2004
Psicotriasina (50)	<i>P. calocarpa</i> Kurz	Folhas (China)	ZHOU et al., 2010
Psicotrimina (51)	<i>P. rostrata</i> Blume	Folhas (Malásia)	TAKAYAMA et al., 2004
Psicotripina (52)	<i>P. pilifera</i> Hutchinson	Folhas (China)	LI et al., 2011
Quadrígemina A (53)	<i>P. forsteriana</i> A. Gray	Folhas (Vanuato)	ROTH et al., 1986

Tabela 2 (Continua)

Tabela 2 (Continuação)

Quadrigemina B (54)	<i>P. forsteriana</i> A. Gray	Folhas (Vanuato)	ROTH et al., 1986
	<i>P. rostrata</i> Blume	Caule e Galhos (Malásia)	LAJIS; MAHMUD; TOIA, 1993
	<i>P. colorata</i> (Willd ex R. & S.) Müll. Arg.	Folhas (Brasil)	VEROTTA et al., 1999
Quadrigemina C (55)	<i>P. oleoides</i> Schlecht	Folhas (Nova Caledônia)	LIBOT et al., 1987; GUÉRITTE-VOEGELEIN et al., 1992; JENNIC et al., 1999
	<i>P. colorata</i> (Willd ex R. & S.) Müll. Arg.	Flores e Folhas (Brasil)	VEROTTA et al., 1998; 1999
(+) - Quimonantina (56)	<i>P. rostrata</i> Blume	Caule e Galhos (Malásia)	LAJIS; MAHMUD; TOIA, 1993
	<i>P. colorata</i> (Willd ex R. & S.) Müll. Arg.	Flores (Brasil)	VEROTTA et al., 1998
	<i>P. muscosa</i> Jacq.	Folhas (Brasil)	VEROTTA et al., 1999
	<i>P. malayana</i> Jack.	Folhas (Indonésia)	HADI; BREMNER, 2001
meso-Quimonantina (57)	<i>P. forsteriana</i> A. Gray	Casca do caule/Frutos (Vanuato)	ADJIBADE et al., 1992
	<i>P. lyciiflora</i> Schlecht.	Folhas (Nova Caledônia)	JANNIC et al., 1999

Tabela 2 (Continua)

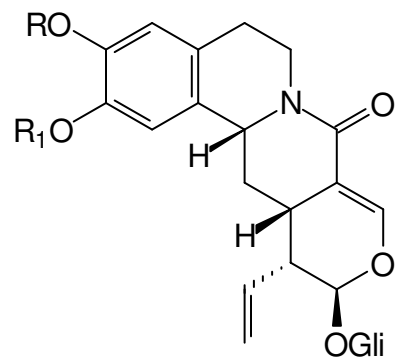
Tabela 2 (Continuação)

	<i>P. muscosa</i> Jacq.	Folhas (Brasil)	VEROTTA et al., 1999
Nb-Desmetil-meso-Quimonantina (58)	<i>P. lyciiflora</i> Schlecht.	Folhas (Nova Caledônia)	JANNIC et al., 1999
N,N-Dimetiltriptamina (59)	<i>P. viridis</i> Ruiz & Pávon	Folhas (Peru)	McKENNA; TOWERS; ABBOT, 1984
		Folhas, Caule e Sementes (Peru)	GERLACH et al., 2010
	<i>P. carthagenensis</i> Jacq.	Folhas, Caule e Inflorescências (EUA - Haváí)	GERLACH et al., 2010

^a No artigo original é utilizada a sinonímia *Carapichea affinis* (Standl.) L. Andersson para espécie *P. borucana* (A.R. Molina) C.M. Taylor & W. Burger.

^b No artigo original é utilizada a sinonímia *Cephaelis ipecacuanha* A. Richard para espécie *P. ipecacuanha* (Brot.) Stokes.

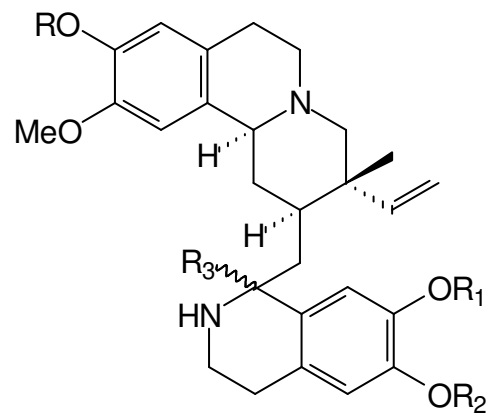
Figura 8 - Estruturas dos alcaloides isoquinolínicos, quinolínicos, poli-indólicos e triptamínicos descritos no gênero *Psychotria*



17 R = Me; R₁ = H

18 R₁ = R₁ = H

19 R = H; R₁ = Me



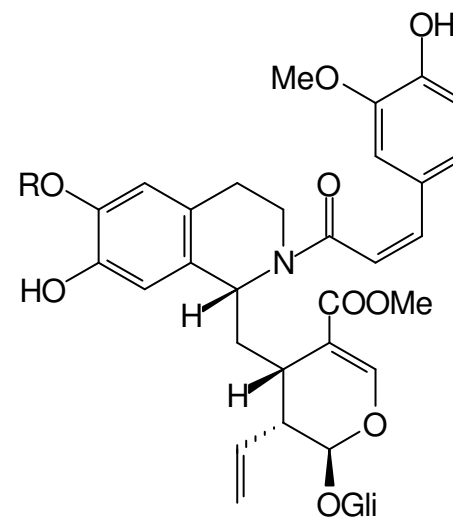
3 R = R₁ = Me; R₂ = Me; R₃ = β-H

4 R = R₁ = Me; R₂ = H; R₃ = β-H

12 R = R₂ = H; R₁ = Me; R₃ = β-H

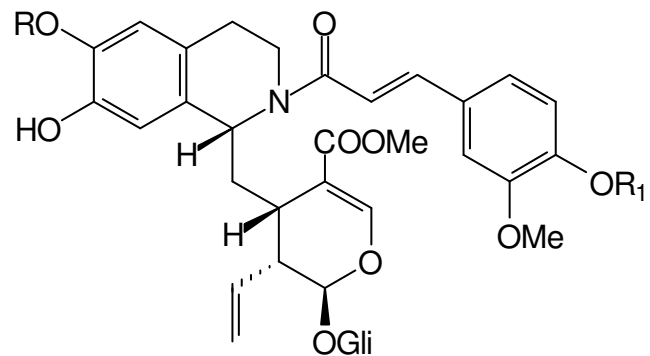
20 R = R₁ = Me; R₂ = H; R₃ = α-H

21 R = Me; R₁ = R₂ = H; R₃ = α-H



22 R = H

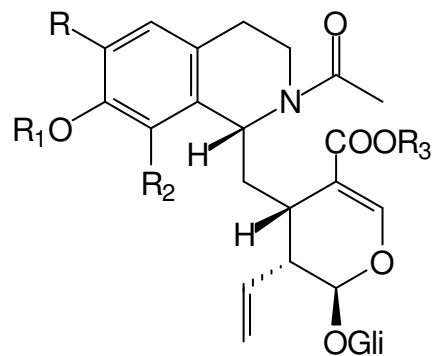
23 R = Me



24 R = R₁ = H

25 R = Me; R = H

26 R = R₁ = Me



27 R = OH; R₁ = R₂ = H; R₃ = Me

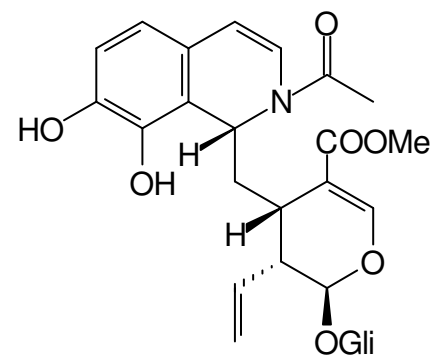
28 R = OH; R₁ = R₂ = R₃ = H

29 R = OMe; R₁ = R₂ = H; R₃ = Me

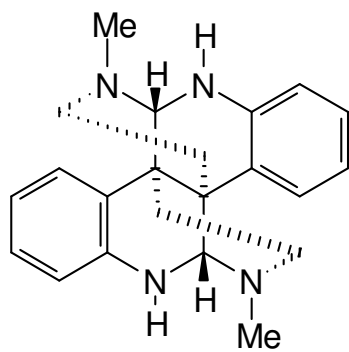
30 R = OH; R₂ = H; R₁ = R₃ = Me

31 R = R₁ = H; R₂ = OH; R₃ = Me

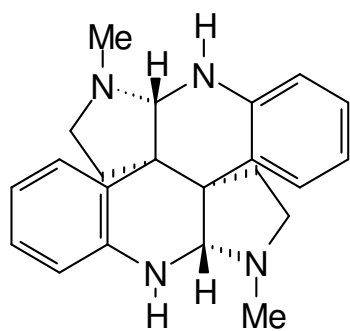
32 R = H; R₁ = R₃ = Me; R = R₂ = OH



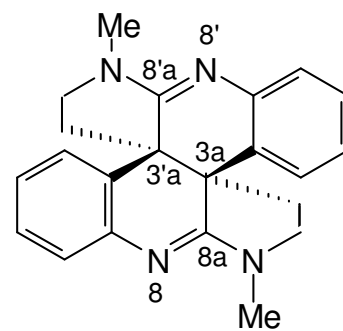
33



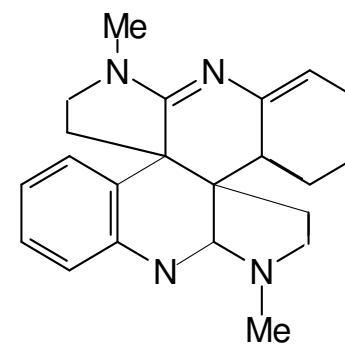
34



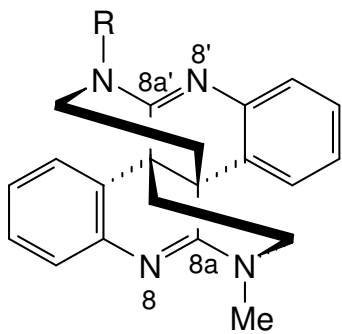
35



36

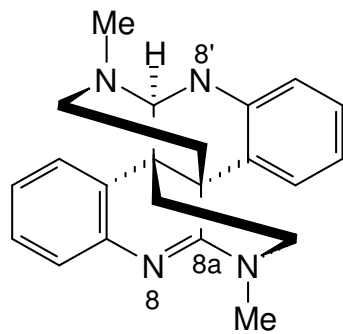


37

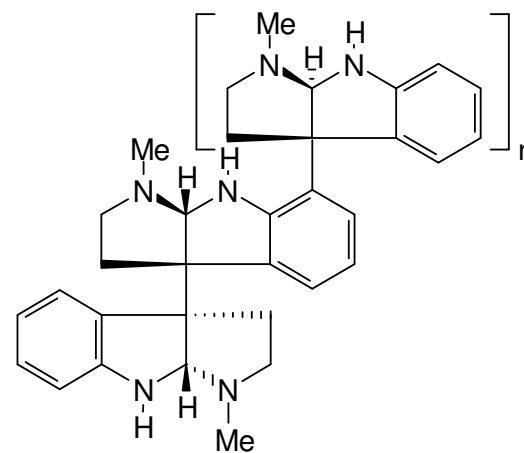


38 R = Me

39 R = H



40

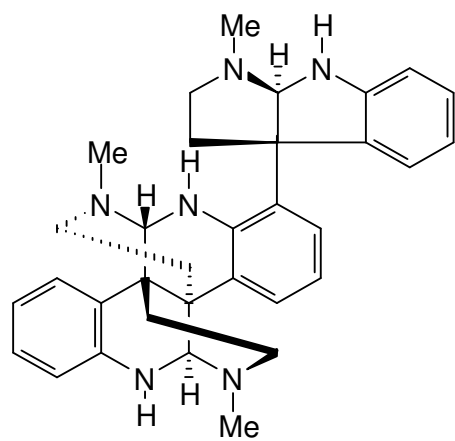


41 n = 5

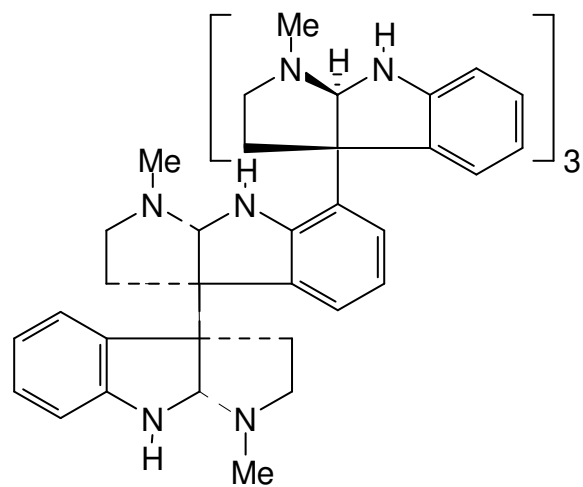
42 n = 3

43 n = 4

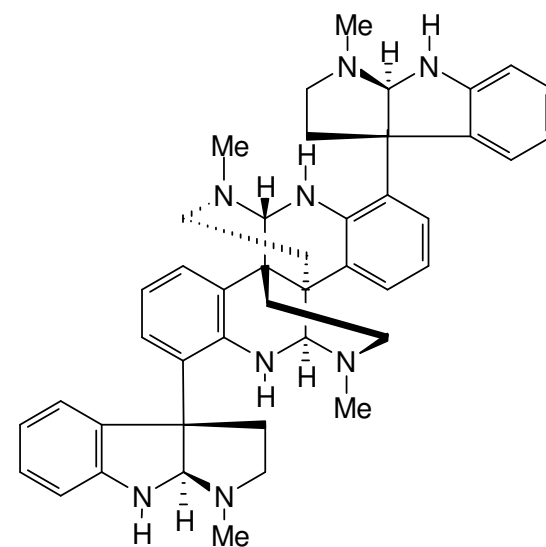
44 n = 2



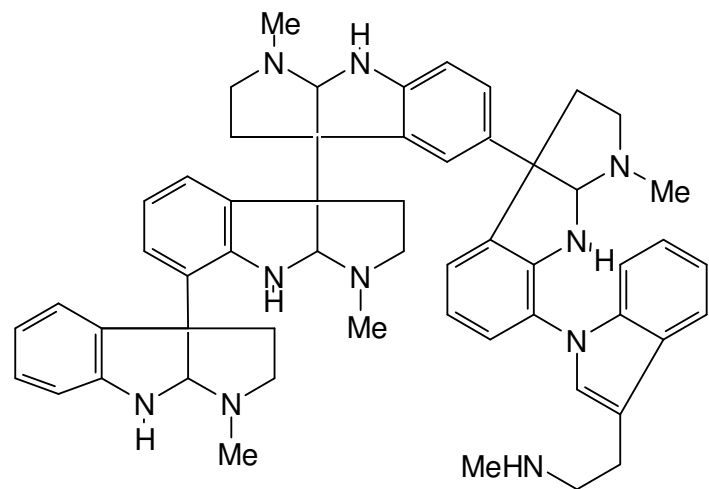
45



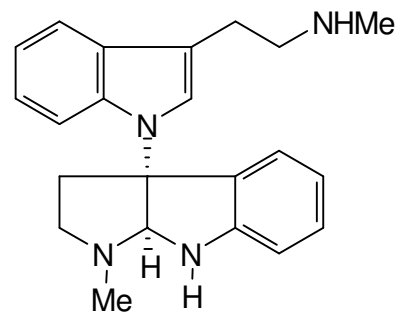
46 e 47



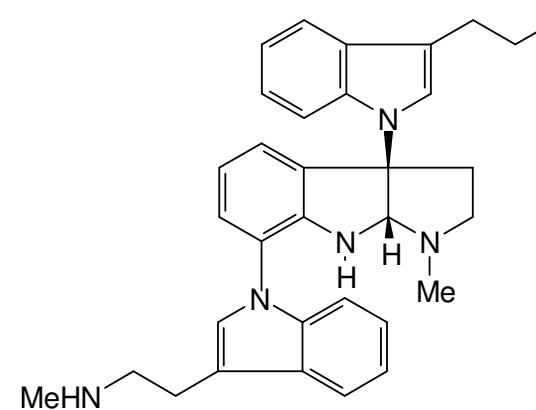
48



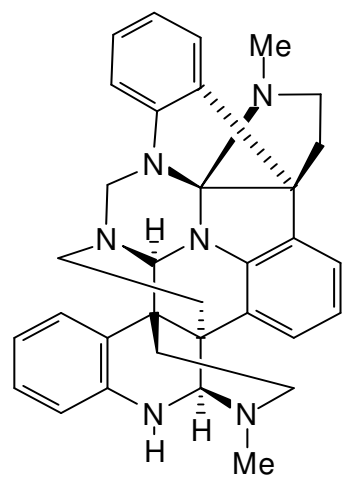
49



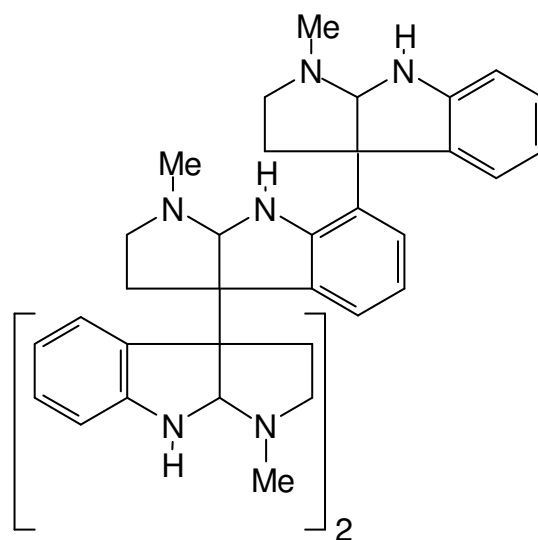
50



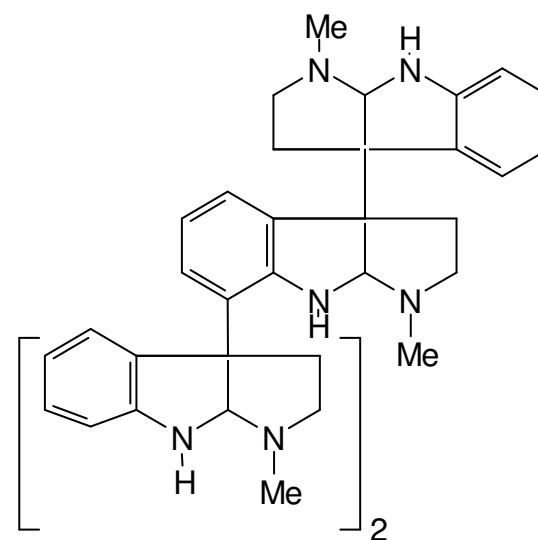
51



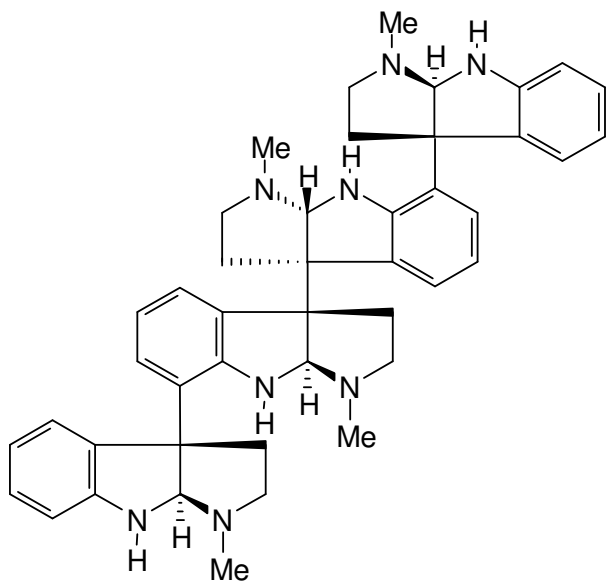
52



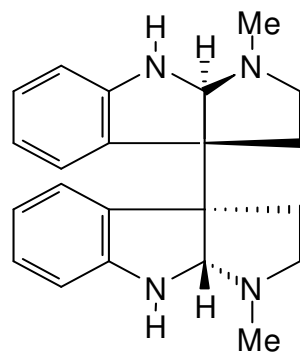
53



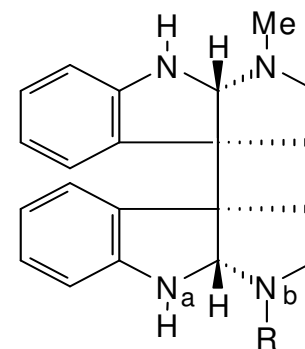
54



55

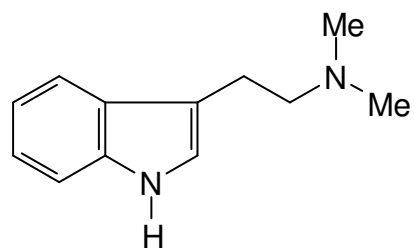


56



57 R = Me

58 R = H



59

Tabela 3 - Alcaloides com esqueleto β -carbólico descritos em espécies de *Psychotria*.

Alcaloides	Espécie	Parte da Planta (País de Coleta)	Referências
14-Oxoprunifoleína (13)	<i>P. prunifolia</i> (Kunth) Steyerm	Folhas (Brasil)	FARIA et al., 2010
	<i>P. prunifolia</i> (Kunth) Steyerm	Galhos (Brasil)	KATO et al., 2012
Estrictosamida (14)	<i>P. dichroa</i> (Standl.) C.M. Taylor ^c	Partes aéreas (Panamá)	SOLIS et al., 1993
	<i>P. suterella</i> Müll. Arg.	Folhas (Brasil)	DE SANTOS, 2001; LOPES et al., 2004
	<i>P. bahiensis</i> DC.	Partes aéreas (Trinidad e Tobago)	PAUL; MAXWELL; REYNOLDS, 2003
	<i>P. myriantha</i> Müll. Arg.	Partes aéreas (Brasil)	FARIAS, 2006
	<i>P. nuda</i> (Cham. et Schltdl) Wawra	Folhas (Brasil)	FARIAS et al., 2009.
	<i>P. prunifolia</i> (Kunth) Steyerm	Folhas (Brasil)	FARIA et al., 2010
	<i>P. prunifolia</i> (Kunth) Steyerm	Galhos e Raízes (Brasil)	KATO et al., 2012
	Ácido estrictosidínico (60)	<i>P. myriantha</i> Müll. Arg.	Partes aéreas (Brasil)
5 α -Carbóxi-estricosidina (61)	<i>P. bahiensis</i> DC.	Partes aéreas (Trinidad e Tobago)	PAUL; MAXWELL; REYNOLDS, 2003

Tabela 3 (Continua)

Tabela 3 (Continuação)

Angustina (62)	<i>P. dichroa</i> (Standl.) C.M. Taylor ^c	Partes aéreas (Panamá)	SOLIS et al., 1993
	<i>P. bahiensis</i> DC.	Partes aéreas (Trinidad e Tobago)	PAUL; MAXWELL; REYNOLDS, 2003
Naucletina (63)	<i>P. suterella</i> Müll. Arg.	Folhas (Brasil)	DE SANTOS, 2001
10-Hidróxi-isoantirhina (64)	<i>P. prunifolia</i> (Kunth) Steyerm	Galhos (Brasil)	KATO et al., 2012
N-óxido-10-hidróxi-antirhina (65)	<i>P. prunifolia</i> (Kunth) Steyerm	Galhos (Brasil)	KATO et al., 2012
Bahienosídeo A (66)	<i>P. bahiensis</i> DC.	Partes aéreas (Trinidad e Tobago)	PAUL; MAXWELL; REYNOLDS, 2003
Bahienosídeo B (67)	<i>P. bahiensis</i> DC.	Partes aéreas (Trinidad e Tobago)	PAUL; MAXWELL; REYNOLDS, 2003
Braquicerina (68)	<i>P. brachyceras</i> Müll. Arg.	Folhas e Brotos (Brasil)	KERBER et al., 2001
Correantina A (69)	<i>P. correae</i> (Dwyer & Hayden) C. M. Taylor	Folhas (Panamá)	ACHENBACH et al., 1995
Correantina B (70)	<i>P. correae</i> (Dwyer & Hayden) C. M. Taylor	Folhas (Panamá)	ACHENBACH et al., 1995
20-Epi-correantina B (71)	<i>P. correae</i> (Dwyer & Hayden) C. M. Taylor	Folhas (Panamá)	ACHENBACH et al., 1995

Tabela 3 (Continua)

Tabela 3 (Continuação)

Correantina C (72)	<i>P. correae</i> (Dwyer & Hayden) C. M. Taylor	Folhas (Panamá)	ACHENBACH et al., 1995
Correantosídeo (73)	<i>P. correae</i> (Dwyer & Hayden) C. M. Taylor	Folhas e Raízes (Panamá)	ACHENBACH et al., 1995
Correantosina E (74)	<i>P. stachyoides</i> Benth	Folhas (Brasil)	PIMENTA et al., 2010a
Correantosina F (75)	<i>P. stachyoides</i> Benth	Caule (Brasil)	PIMENTA et al., 2010a
N-Desmetilcorreantosídeo (76)	<i>P. stachyoides</i> Benth.	Folhas (Brasil)	PIMENTA et al., 2011
10-Hidróxicorreantosídeo (77)	<i>P. correae</i> (Dwyer & Hayden) C. M. Taylor	Folhas (Panamá)	ACHENBACH et al., 1995
Nor-metil-23-oxo-correantosídeo (78)	<i>P. stachyoides</i> Benth.	Partes aéreas (Brasil)	PIMENTA et al., 2010b
10-Hidróxi-isodeppeanol (79)	<i>P. prunifolia</i> (Kunth) Steyerm	Galhos (Brasil)	KATO et al., 2012
Harmano (80)	<i>P. suerrensis</i> Donn. Sm.	Folhas (Costa Rica)	MURILLO; CASTRO, 1998
4-Metil-Tetrahydro- β -carbolina (81)	<i>P. viridis</i> Ruiz & Pávon	Folhas (Peru)	RIVIER; LINDGREN, 1972; McKENNA; TOWERS; ABBOT, 1984

Tabela 3 (Continua)

Tabela 3 (Continuação)

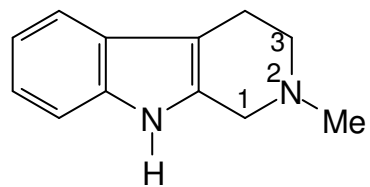
	<i>P. carthagenensis</i> Jacq.	Folhas (Peru)	RIVIER; LINDGREN, 1972
Isodolicantosídeo (82)	<i>P. correae</i> (Dwyer & Hayden) C. M. Taylor	Folhas e Raízes (Panamá)	ACHENBACH et al., 1995
Estricosidina (83)	<i>P. dichroa</i> (Standl.) C.M. Taylor ^c	Partes aéreas (Panamá)	SOLIS et al., 1993
Lialosídeo (84)	<i>P. suterella</i> Müll. Arg.	Folhas (Brasil)	DE SANTOS, 2001; LOPES et al., 2004
Miriantosina (85)	<i>P. myriantha</i> Müll. Arg.	Partes aéreas (Brasil)	SIMÕES-PIRES et al., 2006
Miriantosina A (86)	<i>P. myriantha</i> Müll. Arg.	Folhas (Brasil)	LOPES et al., 2004
Miriantosina B (87)	<i>P. myriantha</i> Müll. Arg.	Folhas (Brasil)	LOPES et al., 2004
Prunifoleína (88)	<i>P. prunifolia</i> (Kunth) Steyerm	Folhas (Brasil)	FARIA et al., 2010
Psicolatina (= Umbelatina) (89)	<i>P. umbellata</i> Vell.	Folhas (Brasil)	KERBER, 1999; LOPES et al., 2004; KERBER et al., 2008
N ⁴ -[1-(2- α -hidroxipropil)]-psicolatina (90)	<i>P. umbellata</i> Vell.	Folhas (Brasil)	KERBER, 1999
N ⁴ -[1-(2- β -hidroxipropil)]-psicolatina (91)	<i>P. umbellata</i> Vell.	Folhas (Brasil)	KERBER, 1999

Tabela 3 (Continua)

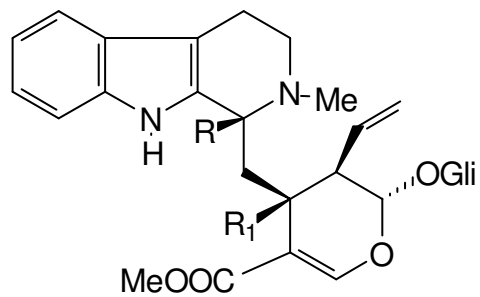
Tabela 3 (Continuação)

3,4-Desidro-18,19- β -epóxi-epi- psicolatina (92)	<i>P. umbellata</i> Vell.	Folhas (Brasil)	KERBER, 1999
Stachyosídeo (93)	<i>P. stachyoides</i> Benth.	Partes aéreas (Brasil)	PIMENTA et al., 2010b
(E)-Valesiacotamina (94)	<i>P. dichroa</i> (Standl.) C.M. Taylor ^c	Partes aéreas (Panamá)	SOLIS et al., 1993
	<i>P. bahiensis</i> DC.	Partes aéreas (Trinidad e Tobago)	PAUL; MAXWELL; REYNOLDS, 2003
(E)-Valesiacotamina (95)	<i>P. dichroa</i> (Standl.) C.M. Taylor ^c	Partes aéreas (Panamá)	SOLIS et al., 1993
	<i>P. bahiensis</i> DC.	Partes aéreas (Trinidad e Tobago)	PAUL; MAXWELL; REYNOLDS, 2003
Valesiacotamina lactona (96)	<i>P. dichroa</i> (Standl.) C.M. Taylor ^c	Partes aéreas (Panamá)	SOLIS et al., 1993
N, β -D-Glicopiranosil- vincosamida (97)	<i>P. leiocarpa</i> Cham. & Schltdl.	Folhas (Brasil)	LOPES, 1998; LOPES et al., 2004

^c No artigo original é utilizada a sinonímia *Cephaelis dichroa* (Standl.) Standl. para espécie *P. dichroa* (Standl.) C.M. Taylor.

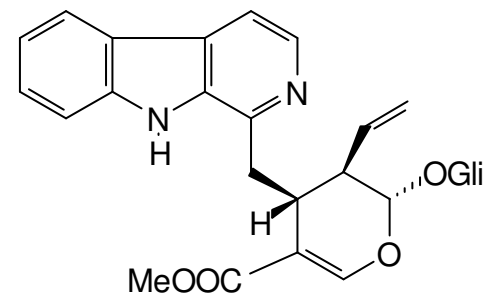


81

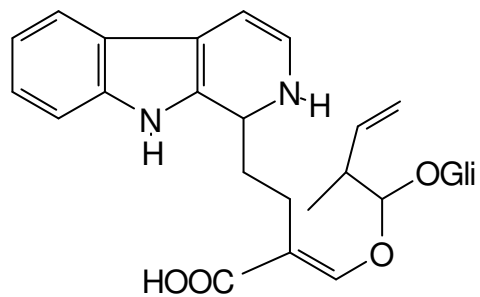


82 R=R₁= β-H

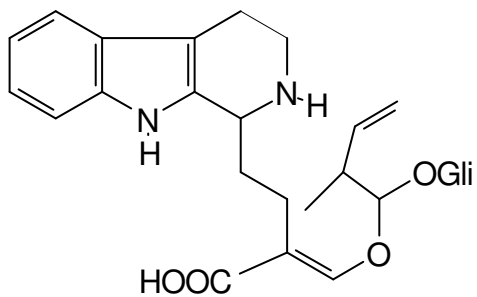
83 R=R₁= α-H



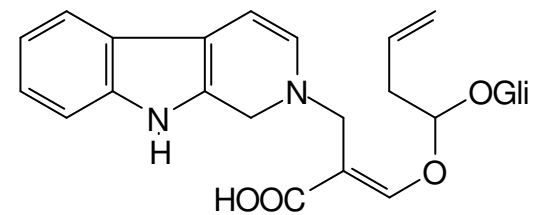
84



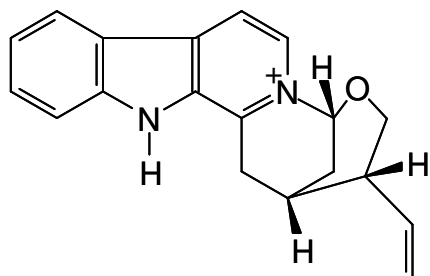
85



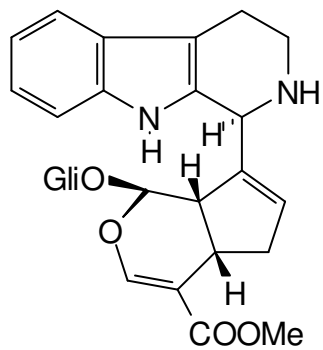
86



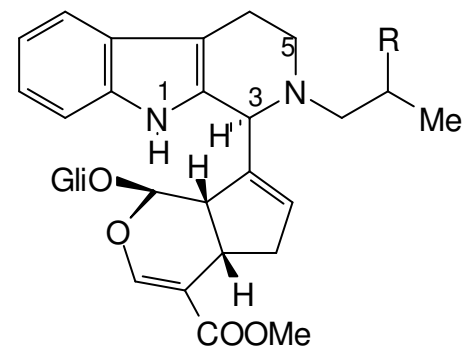
87



88

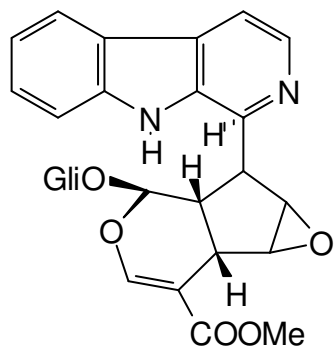


89

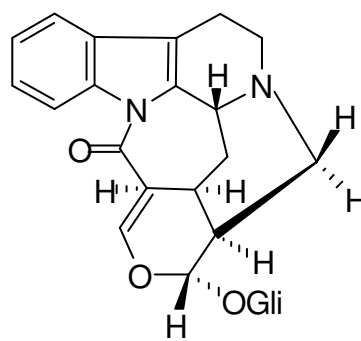


90 R = α -OH

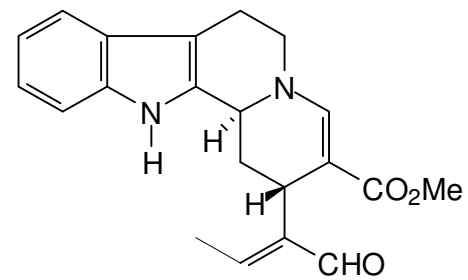
91 R = β -OH



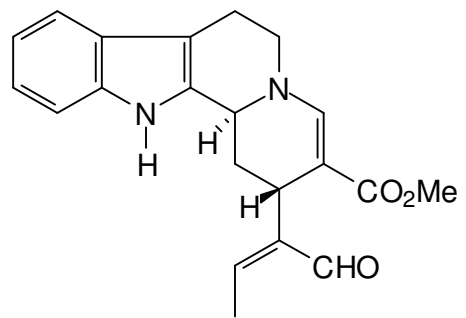
92



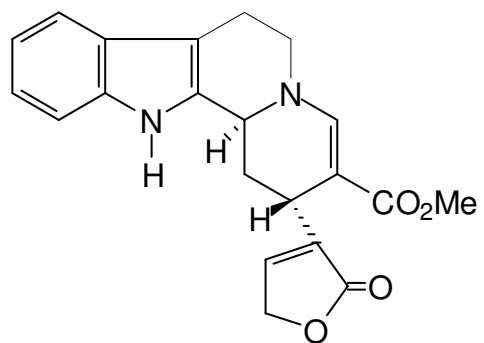
93



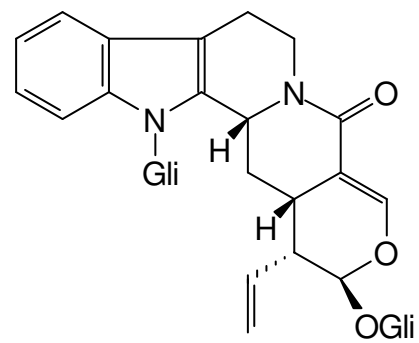
94



95



96



97

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Caracterizar sob aspecto químico e farmacológico os extratos e substância obtidas a partir das espécies *S. grisea* var. *grisea* Cham. & Schltdl. e *P. barbiflora* DC. (Rubiaceae).

3.2 Específicos

- ◆ Avaliar o potencial antinociceptivo dos extratos e frações das espécies selecionadas no modelo de contorções abdominais induzidas por ácido acético;
- ◆ Isolar e identificar as estruturas dos compostos presentes nos extratos considerados promissores nos ensaios efetuados;
- ◆ Avaliar a atividade antinociceptiva das substâncias isoladas utilizando diferentes modelos experimentais para o estudo da dor;
- ◆ Avaliar a atividade anti-inflamatória das substâncias isoladas utilizando o modelo de pleurisia induzida por carragenina;
- ◆ Avaliar a citotoxicidade das substâncias isoladas.

4 EXPERIMENTAL

4.1 Materiais, Métodos e Equipamentos

- ▶ Para obtenção dos extratos brutos foram utilizados extratores de vidro e de aço inoxidável;
- ▶ Nas partições e nas separações cromatográficas foram utilizados solventes destilados no próprio laboratório ou P.A. (LABSYNTH[®], VETEC[®] e QUIMEX[®]);
- ▶ A concentração das soluções contendo grandes volumes foi efetuada em evaporadores rotativos, marcas BUCHI[®] e IKA WERKE[®], modelos R-114 e RV06-ML, respectivamente; enquanto que as de pequeno volume foram feitas à temperatura ambiente em capela de exaustão da PERMUTION[®];
- ▶ As pesagens das amostras e reagentes foram efetuadas em balança eletrônica analítica (modelo AX 200) e semi-analítica, das marcas SHIMADZU[®] e BEL[®], respectivamente;
- ▶ Nas separações cromatográficas em coluna foram utilizados como adsorventes sílica gel 60 G (70-230 mesh e 230-240 mesh), 60 H (MERCK[®]) e Sephadex LH-20 (PHARMACIA[®]);
- ▶ Nas cromatografias em camada delgada analítica (CCDA – 0,50 mm de espessura) e preparativa (CCDP – 0,75 mm de espessura) foi utilizada sílica gel 60 PF₂₅₄ da MERCK[®]. As cromatoplasmas foram preparadas manualmente utilizando-se suspensões de gel de sílica em água destilada espalhadas sobre as placas de vidro através de um espalhador mecânico, sendo ativadas a 100°C durante uma hora em estufa da BIOMATIC[®];
- ▶ Os cromatogramas foram revelados através do uso de lâmpada ultravioleta da SPECTROLINE[®], modelo ENF-260C/F, em comprimento de onda de 254 e 366 nm; por imersão em cubas contendo vapores de iodo e/ou borrifação com solução ácida de sulfato cérico ou de reagente de Dragendorff;
- ▶ Nas solubilizações utilizou-se Ultrasom da BRANSON[®], modelo 1210;

- ▶ Na secagem da vidraria utilizou-se estufa de esterilização universal, modelo 219;
- ▶ Os espectros de RMN (^1H : 400 MHz; ^{13}C : 100 MHz) foram obtidos em espectrômetros da BRUKER[®], modelo Avance 400, operando na frequência de 400 MHz para hidrogênio (^1H) e 100 MHz para carbono-treze (^{13}C) do Instituto de Química da Universidade Federal de Alagoas (IQB-UFAL). As amostras foram dissolvidas em solventes deuterados (clorofórmio, metanol ou piridina puros ou em mistura) e o TMS foi utilizado como referência interna.
- ▶ A análise em CG-EM foi efetuada, no Museu Paraense Emílio Goedi – Belém/PA, usando uma combinação de CG-FID (HP, modelo 5890), coluna capilar de CP-Sil-8CB (25 m x 0,25 mm d.i., 0,25 μm de espessura do filme) e CG-EM (VARIAN[®], modelo 3400 e FINNIGAM[®] Incos-XL) em coluna de sílica fundida DB-5 (30 m x 0,25 mm i.d., 0,25 μm de espessura do filme).
- ▶ Os pontos de fusão foram determinados em aparelho digital da MICRO QUÍMICA[®], modelo MQAPF-302;
- ▶ Para a realização dos ensaios antinociceptivos e anti-inflamatórios as drogas utilizadas foram atropina, glibenclamida, indometacina, ioimbina, metoclopramida, naloxona e morfina adquiridas da SIGMA CHEMICAL[®], diazepam, sob autorização, no Hospital Universitário da UFAL, formalina, ácido acético adquirido da MERCK[®];
- ▶ No ensaio de nocicepção induzida por estímulo térmico foi utilizado o aparelho modelo EFF-361, INSIGHT[®].
- ▶ O teste do desempenho motor (Rota-rod) foi realizado com o aparelho modelo EFF-412, INSIGHT[®].
- ▶ Os lavados pleurais obtidos no ensaio de pleurisia induzida por carragenina foram obtidos utilizando a centrífuga modelo Unicem MR, HEROLAB[®].
- ▶ Na contagem total de neutrófilos foram utilizados citocentrífuga, modelo CT-2000, CIENTEC[®], e microscópio óptico modelo BX 41, OLYMPUS[®].

- ▶ No experimento de quantificação de TNF-alfa, bem como no de viabilidade celular a absorbância foi obtida utilizando espectrofotômetro automático de microplacas de 96 poços modelo RS-232, THERMOPLATE®.

4.2 Animais

Foram utilizados camundongos Swiss adultos de ambos os sexos (18 a 25 g), provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Alagoas. Os animais foram mantidos em condições controladas de temperatura ($22 \pm 2^\circ\text{C}$) e luminosidade (ciclo claro/escuro de 12 horas) com livre acesso a ração e água antes dos experimentos. Para sua adaptação, os animais permaneceram, nas mesmas condições anteriormente citadas, no biotério do Laboratório de Biologia Celular por pelo menos 24 horas e na sala de realização de experimentos comportamentais por um período de pelo menos 2 horas antes da realização dos ensaios. Todos os experimentos foram aprovados e estão de acordo com as normas do Comitê de Ética Institucional da UFAL (Protocolo nº 9301/2009-96).

4.3 Coleta e Identificação dos Materiais Vegetais

Diferentes partes de *Sabiceae grisea* (**Sg**: folhas e caule; MAC-11356) e de *Psychotria barbiflora* (**Pb**: folhas e caule; MAC-11353) foram coletadas, em maio de 2008, no Horto Municipal de Maceió-AL e identificados pela botânica *Rosângela Pereira de Lyra Lemos* do Instituto do Meio Ambiente do Estado de Alagoas, onde exsiccatas dos materiais herborizados foram depositadas.

4.4 Preparação dos Extratos

As folhas e caule de **Sg** e **Pb**, após secagem à temperatura ambiente e trituração, foram individualmente extraídas através de maceração com etanol 90%. Os extratos brutos obtidos [**Sg**: folhas (71,8 g) e caule (100,6 g) (Figuras 10 (p. 70) e 11 (p. 73); **Pb**: folhas (21,2 g) e caule (19,8 g) (Figuras 12 (p. 75) e 13 (p. 76)], após eliminação dos solventes em evaporador rotatório e secagem a temperatura ambiente, parte destes extratos (2,0 g foi reservado) foi individualmente suspenso em solução MeOH-H₂O (3:2) e extraídos sucessivamente com hexano, CHCl₃ e

AcOEt. Inicialmente, os extratos brutos e as frações provenientes de partição foram submetidos à prospecção fitoquímica para busca de alcaloides e a ensaios de nocicepção, através do modelo de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético.

4.4.1 Prospecção Fitoquímica para Alcaloides com Extratos e Frações

A prospecção fitoquímica permite fazer uma abordagem dos componentes químicos presentes nos extratos. Esta ferramenta é muito valiosa para seleção de plantas para estudos monitorados (MATOS, 1997). Como mencionado anteriormente, a presença de alcaloides é comum na família Rubiaceae. Por esta razão, foram realizados testes para detecção de alcaloides com os extratos e frações oriundas das partições utilizando os reagentes de Bouchardat, Dragendorff e Mayer. Para tanto, alíquotas de aproximadamente 5 mg das amostras foram dissolvidos em 4 mL de solução de HCl à 5%, filtradas e divididas em três tubos de ensaios. Após este processo as soluções de cada reagente foram gotejadas.

4.4.1.2 Preparação dos Reagentes

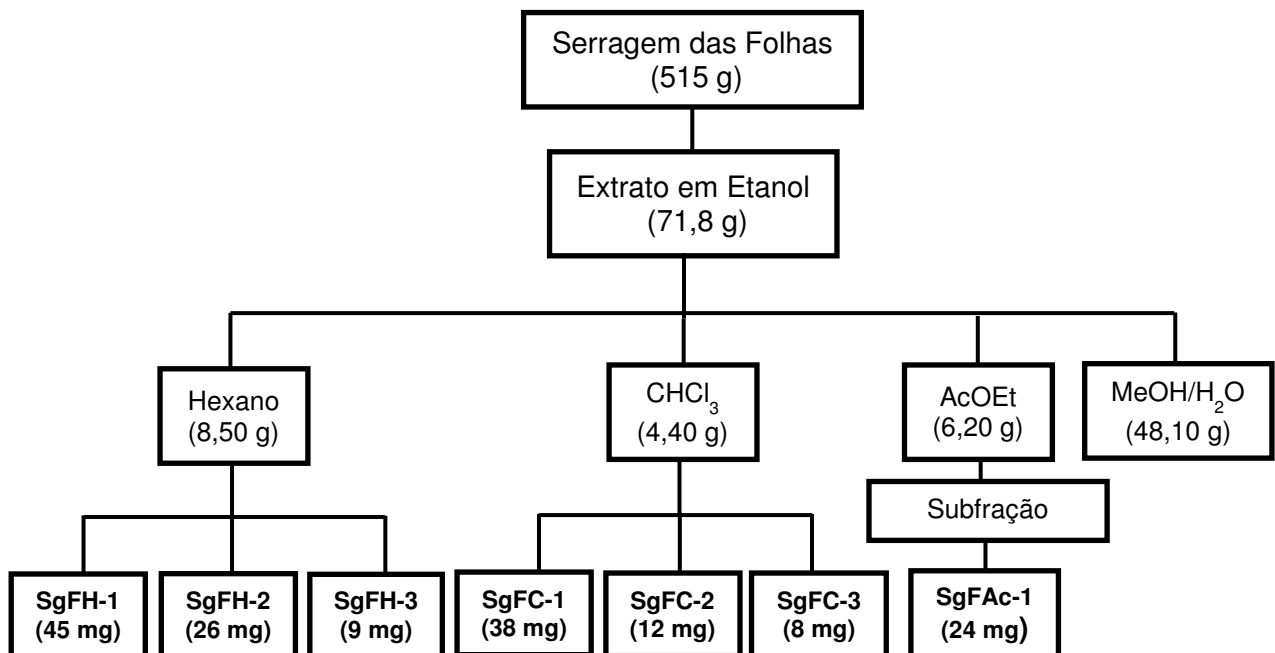
- a) **Bouchardat** - Foram dissolvidos 4 g de iodeto de potássio e 2 g de iodo em 100 mL de água destilada, até completa dissolução.
- b) **Dragendorff** - Foram dissolvidos 0,85 g de Subnitrato de bismuto em 50 mL de uma solução a 20% de ácido acético (Solução A). Para a solução B, foram dissolvidos 8 g de Iodeto de potássio em 20 mL de água destilada. Em seguida, sob proteção da luz, a solução A foi misturada lentamente com a solução B.
- c) **Mayer** - Foram dissolvidos 1,36 g de Bicloreto de mercúrio em 60 mL de água destilada (Solução A). Para a solução B foram dissolvidos 5 g de Iodeto de potássio em 10 mL de água destilada. Em seguida, as soluções foram misturadas e diluídas com água destilada para 100 mL.

4.5 Investigação Fitoquímica

4.5.1 Procedimento Experimental Efetuado com as Frações das Folhas da Espécie *S. grisea*

Três das frações provenientes da partição do extrato em etanol das folhas de *S. grisea* (hexano, CHCl_3 e AcOEt), com resultados promissores nos ensaios de nocicepção, foram submetidas a técnicas de separação e purificação de seus constituintes químicos (Figura 10, p. 70).

Figura 10 - Esquema geral do procedimento experimental efetuado com as folhas de *S. grisea*.



4.5.1.1 Procedimento Experimental Efetuado com a Fração em Hexano

A fração em hexano (8,50 g) foi fracionada em gel de sílica utilizando hexano, AcOEt e misturas de ambos em proporções crescentes de polaridade. Foi coletado um total de 182 subfrações com um volume médio aproximado de 75 mL cada. Após eliminação dos solventes e pesagem, as subfrações resultantes foram analisadas através de cromatografia em camada delgada de gel de sílica e agrupadas de acordo com a semelhança de seus respectivos Rf.

O material do grupo contendo as subfrações reunidas 28-33 (0,092 g), após sucessivas lavagens a frio com hexano conduziu ao isolamento de um sólido branco, amorfo, p.f. 81-82°C, o qual foi codificado de **SgFH-1** (0,045 g). Esta substância foi submetida à análise através de CG-EM utilizando as seguintes condições: coluna de sílica fundida DB-5 (30 m, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 mm de filme thickness); temperatura de injeção de 220°C programada para elevação da temperatura de 60-270°C (3°C/min); com tipo de injeção splitless (1 µL de 1:1000 solução de *n*-hexano); sendo o gás de arraste o hélio ajustado para uma velocidade linear de 32 cm/s (medido a 100 °C); o cromatógrafo foi equipado com um detector por ionização em chamas, conectado com um integrador eletrônico da série II HP 3396. A percentagem da composição da porção volátil da amostra foi computada pela área dos picos no respectivo cromatograma. O espectro de massa foi obtido a 70 eV por ionização eletrônica e a temperatura da fonte de íons foi de 180°C; a faixa de massa molecular foi de 25-700 u.

Os componentes individuais foram identificados pela comparação dos espectros de massas com os de compostos padrões previamente analisados e armazenados em banco de dados ou com dados relatados na literatura (JENNINGS; SHIBAMOTO, 1980). O índice de retenção foi calculado usando a série homóloga de *n*-alcanos em coluna DB-5.

O material contendo o grupo de subfrações reunidas 38-42 (0,282 g), após sucessivas lavagens a frio com hexano e cristalização com etanol levou ao isolamento de um sólido branco, cristalino, p.f. 130-132°C, que foi codificado de **SgFH-2** (0,026 g). O material contendo o grupo de subfrações reunidas 140-145 (0,125 g), após sucessivas lavagens a frio com metanol resultou na purificação de sólido branco, amorfo, p.f. 279-281°C, que foi codificado de **SgFH-3** (0,009 g).

4.5.1.2 Procedimento Experimental Efetuado com a Fração em Clorofórmio

O material da fração de partição em CHCl₃ das folhas (4,4 g) foi fracionado em gel de sílica empregando-se na eluição hexano, AcOEt, MeOH e misturas destes em proporções crescentes de polaridade. Foram coletadas 145 subfrações com um volume médio aproximado de 25 mL cada. Após análise comparativa através de CCD, essas subfrações foram agrupadas e submetidas a técnicas de separação e purificação de seus constituintes químicos.

O material do grupo contendo as subfrações reunidas 35-36 (0,069 g) foi submetido à cromatografia por exclusão usando Sephadex LH-20 com MeOH. Este procedimento resultou no isolamento de um sólido branco, amorfo, de 179-181°C, codificado de **SgFC-1** (0,038 g).

Os materiais dos grupos contendo as subfrações reunidas 81-83 (0,108 g) e 93-98 (0,085 g), após sucessivas lavagens a frio com MeOH conduziram, respectivamente, ao isolamento dois sólidos branco, amorfos, codificados de **SgFC-2** (0,012 g; p.f. 279-281°C) e de **SgFC-3** (0,008 g; p.f. 183-185°C).

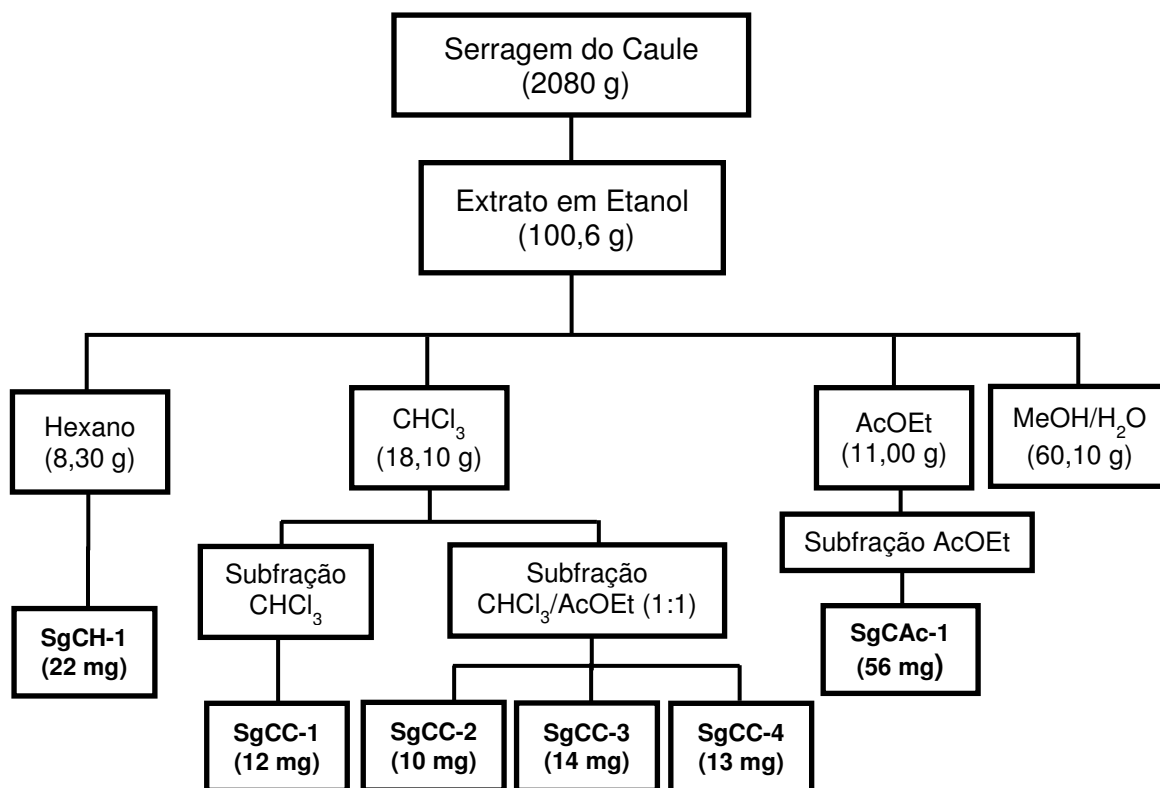
4.5.1.3 Procedimento Experimental Efetuado com a Fração em Acetato de Etila

O material proveniente da fração em AcOEt (6,2 g) foi fracionado em gel de sílica usando como eluentes CHCl_3 , CHCl_3 -AcOEt 1:1, AcOEt e MeOH. A subfração em AcOEt (1,2 g) foi novamente fracionada em gel de sílica utilizando hexano e misturas de hexano e AcOEt em gradiente crescente de polaridade. Este procedimento resultou na purificação de um sólido branco, amorfo, p.f. 279-281°C, codificado de **SgFAc-1** (0,024 g).

4.5.2 Procedimento Experimental Efetuado com as Frações do Caule da Espécie *S. grisea*

De forma similar ao efetuado com as folhas, as frações oriundas da partição do extrato em etanol do caule de *S. grisea* (Hexano, CHCl_3 e AcOEt), com resultados promissores nos ensaios antinociceptivos, foram submetidas a técnicas de separação e purificação de seus constituintes químicos (Figura 11, p. 73).

Figura 11 - Esquema geral do procedimento experimental efetuado com o caule de *S. grisea*.



4.5.2.1 Procedimento Experimental Efetuado com a Fração em Hexano

O material oriundo da fração em hexano do caule (8,3 g), após sucessivos fracionamentos cromatográficos em gel de sílica com misturas de hexano e AcOEt em proporções crescentes de polaridade forneceu um sólido branco, cristalino, p.f. 130-132°C, codificado de **SgCH-1** (0,022 g).

4.5.2.2 Procedimento Experimental Efetuado com a Fração em Clorofórmio

O material proveniente da fração de partição em CHCl_3 do caule (18,1 g) foi fracionado em gel de sílica usando hexano- CHCl_3 1:1, CHCl_3 , CHCl_3 -AcOEt 1:1, AcOEt e MeOH. As subfrações em CHCl_3 (0,48 g) e em CHCl_3 -AcOEt 1:1 (1,9 g) foram novamente fracionadas em gel de sílica utilizando hexano e misturas de hexano e AcOEt em gradiente crescente de polaridade. Estes procedimentos

resultaram no isolamento de um sólido branco, amorfo, p.f. 197-199°C, codificado de **SgCC-1** (0,012 g) da subfração em CHCl₃, dois sólidos branco, cristalinos, p.f. 151-153°C (**SgCC-2**; 0,010 g) e p.f. 209-211°C (**SgCC-3**; 0,014 g) e um sólido alaranjado, amorfo, p.f. 138-140°C (**SgCC-4**; 0,013 g) da subfração em CHCl₃-AcOEt 1:1.

4.5.2.3 Procedimento Experimental Efetuado com a Fração em Acetato de Etila

O material oriundo da fração de partição em AcOEt (11,0 g) foi fracionada em coluna de gel de sílica usando CHCl₃, CHCl₃-AcOEt 1:1, AcOEt e MeOH. A subfração obtida em AcOEt (0,35 g) após sucessivos fracionamentos cromatográficos em gel de sílica 60 (70-230 mesh) usando CHCl₃ e misturas de CHCl₃ e MeOH em proporções crescentes de polaridade e sucessivas recristalizações com MeOH forneceu o sólido branco, amorfo, p.f. 279-281°C, codificado de **SgCAc-1** (0,056 g).

4.5.3 Procedimento Experimental Efetuado com as Frações das Folhas da Espécie *P. barbiflora*

Duas das frações provenientes da partição do extrato em etanol das folhas de *P. barbiflora* (CHCl₃ e AcOEt), com resultados positivos nos ensaios de nocicepção e com detecção de alcaloides em triagem fitoquímica, foram submetidas a técnicas de separação e purificação de seus constituintes químicos (Figura 12, p. 75).

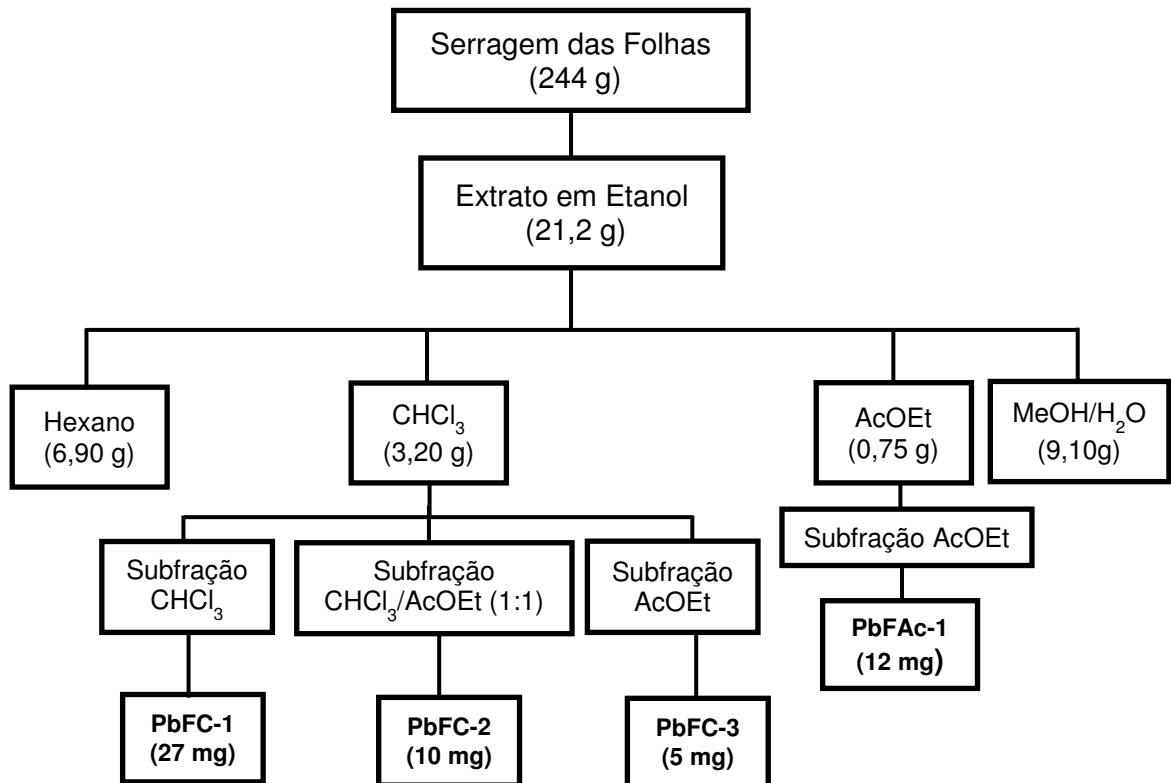
4.5.3.1 Procedimento Experimental Efetuado com a Fração em Clorofórmio

O material da fração de partição em CHCl₃ (3,2 g) foi fracionado em gel de sílica usando como eluentes hexano-CHCl₃ 1:1, CHCl₃, CHCl₃-AcOEt 1:1, AcOEt e MeOH. O material da subfração em CHCl₃ (0,177 g) foi submetido a CCD preparativa resultando no isolamento de um sólido branco cristalino codificado de **PbFC-1** (0,027 g; pf. 231-233°C).

Os materiais oriundos das subfrações em CHCl₃-AcOEt 1:1 (0,181 g) e em AcOEt (0,183 g) foram fracionados em Sephadex LH-20 utilizando MeOH como eluente. Este procedimento resultou, respectivamente, na purificação de dois sólidos

cristalinos, codificados de **PbFC-2** (0,010 g; pf. 231-233°C) e **PbFC-3** (0,005 g; pf. 231-233°C).

Figura 12 - Esquema geral do procedimento experimental efetuado com as folhas de *P. barbiflora*.



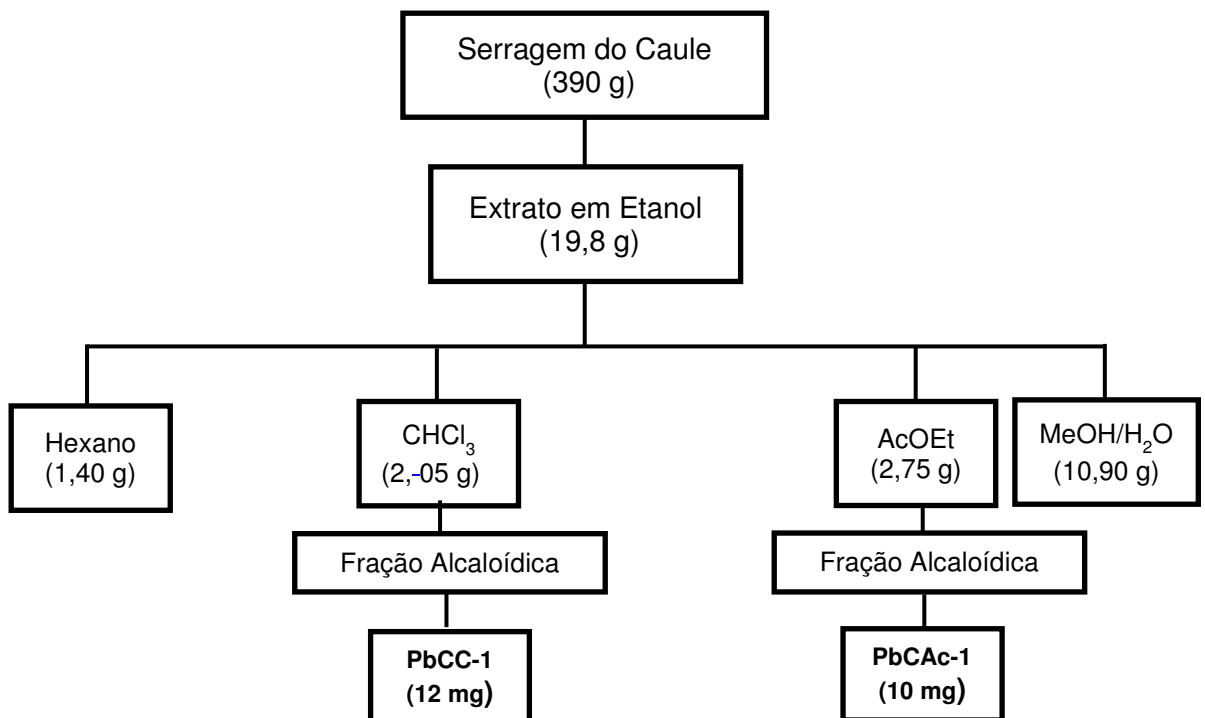
4.5.3.2 Procedimento Experimental Efetuado com a Fração em Acetato de Etila

O material da fração de partição em AcOEt (0,750 g) foi fracionado em Sephadex LH-20 utilizando MeOH como eluente. Este procedimento resultou no isolamento de um sólido cristalino branco, pf. 231-233°C, codificado de **PbFAc-1** (0,012 g).

4.5.4 Procedimento Experimental Efetuado com as Frações do Caule da Espécie *P. barbiflora*

Os materiais originários das frações de partição em CHCl_3 (2,05 g) e AcOEt do caule (2,75 g) (Figura 13, p. 76) foram tratados, separadamente, com solução aquosa de 10% de HCl e, em seguida extraída com CHCl_3 (3 x 150 mL) seguida de AcOEt (3 x 150 mL). Posteriormente, a fase ácida foi basificada com NH_4OH (pH 10-11) e extraída com AcOEt (3 x 150 mL) para fornecer as frações alcalóidicas [CHCl_3 (0,125 g) e AcOEt (0,170 g)] (PIMENTA et al., 2011). Estas foram fracionada em Sephadex LH-20 com MeOH, sendo isolado um sólido cristalino, p.f. 231-233°C, da fração em CHCl_3 , codificado de **PbFC-1**. O material originário da fração em AcOEt foram reunidos em subfrações. A subfração 16-19 (0,038 g) foi submetido à CCD preparativa, tendo como eluente AcOEt-MeOH 9:1, obtendo-se o sólido amorfo, codificado de **PbCAc-1** (0.010 g).

Figura 13 - Esquema geral do procedimento experimental efetuado com o caule de *P. barbiflora*



4.6 Ensaios para Avaliação da Atividade Antinociceptiva

4.6.1 Teste de Contorções Abdominais Induzidas por Ácido Acético

A atividade antinociceptiva de extratos, frações de partição e substâncias isoladas foi avaliada de acordo com a metodologia descrita por COLLIER e cols. (1968). Neste ensaio foram utilizados seis animais por grupo ($n = 6$) onde todos os animais receberam, por via intraperitoneal (i.p.), solução de ácido acético a 0,6% (0,1 mL/10 g de peso corpóreo) como estímulo algico. Os extratos brutos (100 e 10 mg/kg), frações de partição (10 mg/kg) e as substâncias isoladas **SgFH-1** (10, 1 e 0,1 mg/kg) e **SgFC-1** (1, 0,1 e 0,01 mg/kg) foram solubilizados em etanol e em seguida adicionado solução salina (0,9%) de forma que a quantidade máxima de etanol no veículo não ultrapassasse 2,5%. Os extratos, frações, **SgFH-1** e **SgFC-1** foram administrados em grupos de animais, uma hora antes da injeção com ácido acético. O grupo controle recebeu o mesmo volume do veículo (i.p.) e como fármaco de referência foi utilizado indometacina (20 mg/kg, i.p.). Cinco minutos após a administração do ácido acético, o número de vezes que cada animal apresentou contorções abdominais foi contado durante 10 minutos consecutivos. A percentagem de inibição para cada grupo experimental foi determinada usando a fórmula abaixo (REANMONGKOL et al., 1994):

$$\text{Inibição \%} = 100 - T \times 100/C(\%) \text{ ou } T \times 100/C - 100(\%)$$

Onde C e T indicam não-tratados (veículo) e tratados, respectivamente.

4.6.1.1 Análise do Possível Mecanismo Antinociceptivo das Substâncias Codificadas de SgFH-1 e SgFC-1

Com o objetivo de esclarecer o possível mecanismo de ação envolvido na resposta antinociceptiva das substâncias testadas [**SgFH-1**(10 mg/kg) e **SgFC-1** (1 mg/kg)], os animais foram tratados, por via subcutânea (s.c), no modelo de ácido acético, com diferentes antagonistas de receptores opióides [naloxona (5 mg/kg)], muscarínico [atropina (5 mg/kg)], α 2-adrenérgico [joimbina (1 mg/kg)], serotoninérgico e dopaminérgicos [metaclopramida (1 mg/kg)], bem como o

envolvimento de canais de potássio [glibenclamida (10 mg/kg)], 15 minutos antes da administração das amostras.

4.6.2 Nocicepção Induzida por Estímulo Térmico

O teste de latência ao calor foi usado para medir o tempo de reação dos animais de acordo com o método descrito por EDDY e LEIMBACK (1953). Neste ensaio, os animais (seis animais por grupo; $n = 6$) foram colocados individualmente sobre a superfície de uma placa metálica aquecida (Insight[®], Brasil; modelo EFF-361) mantida a $54 \pm 1^\circ\text{C}$, e o tempo de latência ao calor foi avaliado utilizando como parâmetro o tempo que o animal levou para retirar uma pata traseira da placa quente e lambê-la (20 segundos). Os experimentos foram iniciados 60 minutos após a administração intraperitoneal das substâncias codificadas de **SgFH-1** (10 e 1 mg/kg) e **SgFC-1** (1 e 0,1mg/kg), veículo e morfina (5 mg/kg) como droga padrão.

4.6.3 Teste do Desempenho Motor (Rota-rod)

Este teste foi efetuado de acordo com a metodologia descrita por DUNHAM e MIYA (1957) e o desempenho motor do animal foi medido em aparelho “rota-rod” (Insight[®], Brasil; modelo EFF-412). O equipamento constitui-se de uma barra giratória de 3 cm de diâmetro, subdividida em 4 barras, girando a 16 rpm (rotações por minuto). Para realização do teste, foram utilizados apenas animais em condições de permanecerem 240 segundos (s) na barra giratória do equipamento. Para tanto, durante dois dias consecutivos, antes da realização dos experimentos, os animais foram condicionados a permanecerem por dois tempos de 240 s na barra giratória, sendo considerados aptos e utilizados apenas aqueles que permaneceram os períodos estabelecidos. Foram utilizados quatro grupos contendo seis animais cada ($n = 6$), sendo computado o tempo basal de permanência (em segundos) na barra giratória de, no máximo, 4 minutos (tempo de corte). Uma hora antes do teste, um grupo recebeu por via intraperitoneal somente veículo, outro recebeu diazepam (10 mg/kg, fármaco padrão) e os demais foram tratados com as substâncias codificadas de **SgFH-1** (10 mg/kg) e **SgFC-1** (1 mg/kg), 60 minutos antes do início do experimento. O tempo foi cronometrado imediatamente após a administração das

amostras (tempo zero), avaliando-se a ocorrência de alterações no seu desempenho motor.

4.6.4 Nocicepção Induzida por Formalina

Este ensaio permite a avaliação de dois parâmetros relacionados à nocicepção: a) dor neurogênica - aquela que decorre imediatamente após aplicação do estímulo nociceptivo; b) dor inflamatória - aquela que decorre da ação de mediadores inflamatórios. Neste ensaio, os animais (n = 6) foram tratados com formalina (2,5%, 20 µL) na área subplantar da pata direita. Após o estímulo com formalina, o tempo (em segundos) que o animal passou lambendo a pata traseira direita foi cronometrado durante os 5 minutos iniciais (primeira fase - neurogênica) e no intervalo de 20-30 minutos (segunda fase - inflamatória), sendo considerado tempo zero o momento imediatamente após a administração intraplantar do agente álgico (MURRAY; PORRECA; COWAN, 1988). Os animais foram pré-tratados por via intraperitoneal com **SgFH-1** (1 e 10 mg/kg) e **SgFC-1** (1 e 0,1 mg/kg), veículo e o fármaco de referência, a indometacina (20 mg/kg), 60 minutos antes da administração do estímulo.

4.7 Ensaios para Avaliação da Atividade Anti-inflamatória

4.7.1 Pleurisia induzida por carragenina

A pleurisia foi induzida pela injeção intratorácica (i.t.) de 0,1 mL de uma suspensão de carragenina 1% diluída em solução salina estéril e os animais controles receberam o mesmo volume do veículo (VINEGAR; TARUX; SELPH, 1973). Quatro horas após o estímulo, os animais foram sacrificados em câmara de CO₂ e tiveram a cavidade pleural aberta, lavada com 1 mL de solução de PBS (Phosphate-Buffered Saline) contendo EDTA (10 mM) e o volume recuperado com o auxílio de pipeta automática para posterior análise de conteúdo proteico e células. Grupos de seis animais (n = 6) foram tratados por via intraperitoneal com as substâncias codificadas de **SgFH-1** (1 e 10 mg/kg) e **SgFC-1** (1 e 0,1 mg/kg), veículo ou indometacina (20 mg/kg) uma hora antes da indução da pleurisia. Uma alíquota de 5 µL do exsudato de cada amostra-teste foi diluída em líquido de Turk (ácido

acético a 2%, 295 µL) e usada para determinar a contagem total de leucócitos em câmara de Neubauer, com auxílio do microscópio óptico. Para contagem dos leucócitos diferenciais, foi realizado esfregaço sanguíneo do sangue periférico, as lâminas foram coradas com o kit de coloração panótico rápido (May-Grunwald-Giemsa) e a leitura realizada com o auxílio de microscópio óptico. Após quatro horas os parâmetros inflamatórios foram avaliados.

4.7.2 Quantificação de TNF- α

A quantidade do fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) originária do ensaio de pleurisia foi medida utilizando o método “enzyme-linked immunosorbent assay” – ELISA (PEREIRA; MEDEIROS; FRÖDE, 2006). Os lavados da cavidade pleural dos grupos controle e tratados por via intraperitoneal com as substâncias **SgFH-1** (1 e 10 mg/kg) e **SgFC-1** (1 e 0,1 mg/kg) foram centrifugados a 1500 rpm por 10 min e do sobrenadante livre de células foi quantificado o conteúdo utilizando o conjunto Mouse TNF- α ELISA Ready-SET-Go (eBioscience) (San Diego, CA, EUA), de acordo com as instruções do fabricante. Nestas determinações, placas de 96 poços foram cobertas com 50 µL com anticorpo monoclonal anti-TNF- α (4 µg/mL) por 24 h. Após duas lavagens com PBS/tween os sítios de ligação não-específicos foram bloqueados com 200 µL de PBS-Milk (3%) por 1 h a 20°C, seguido por quatro lavagens com PBS/tween. Os lavados pleurais foram adicionados aos poços e mantidos refrigerados (4°C) por 24 h. Em seguida, após quatro lavagens com PBS/tween, foi adicionado 100 µL do anticorpo monoclonal purificado anti-TNF- α biotilado (2 µg/mL) diluído em PBS-Milk (3%) por 1 h. Após este período, a placa foi lavada e novamente incubada com 50 µL da enzima conjugada com avidina por 30 min. A seguir, após duas lavagens com PBS/tween, foi adicionado em cada poço 100 µL de solução tampão de perborato e OPD (substrato) por 25 min antes do bloqueio da reação com uma solução de ácido sulfúrico (2M). A curva padrão foi preparada com concentrações decrescentes da proteína recombinante diluída em PBS-Milk (3%). A quantificação foi realizada utilizando um leitor de microplaca na absorbância de 450 nm.

4.8 Avaliação da Atividade Citotóxica

A redução do MTT [brometo de 3-(4,5-dimetil-tiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio] é um método colorimétrico rápido, frequentemente usado para medir proliferação celular e citotoxicidade (MOSMAN, 1983). Este ensaio avalia a atividade metabólica das células quantificando a redução metabólica do MTT, que é acumulado pelas células por endocitose, por desidrogenases associadas ao NADPH e ao NADH, através da clivagem do sal de tetrazólio. A quantidade de cristais formada é proporcional ao número de células viáveis. Assim, quanto mais escura a coloração ao final da reação, maior é a viabilidade celular.

As substâncias codificadas de **SgFH-1** e **SgFC-1** foram avaliadas quanto à viabilidade celular, utilizando macrófagos peritoneais. Nestes experimentos, macrófagos peritoneais foram coletados utilizando-se PBS/EDTA 10 mM, centrifugados em centrífuga refrigerada e ressuspensos em 1 mL de meio RPMI/SFB 10%. Em seguida, as células viáveis (verificadas utilizando-se o método de exclusão por azul de Tripán, que cora em azul as células não viáveis) foram plaqueadas na densidade de $2,5 \times 10^5$ células/poço, em placas de 96 poços e incubadas em estufa de CO₂ por 37°C por 2 h. Após este período, as substâncias foram incubadas em diferentes concentrações (1, 10, 50, 100 e 200 µg/mL) por 24 h. Como grupos controles foram utilizados apenas células e meio de cultura ou células tratadas com Tween (3%). Após o período de incubação, as células foram incubadas com MTT por 4 h. Após lavagem foi adicionado 150 µL de DMSO e realizada a leitura em aparelho de espectrofotômetro no comprimento de onda de 540 nm. Os valores da viabilidade celular foram expressos em percentagem relativa à absorbância determinada nas células controle.

4.9 Análise Estatística

Os resultados obtidos foram analisados através do teste de análise de variância do teste t (ANOVA), seguido do teste estatístico one-way de Newman-Keuls-Student. Os dados foram expressos como a média \pm erro padrão da média (EPM) com um mínimo seis animais, onde os valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativo. A determinação CI_{50} (concentração da amostra,

inibitória para 50% de uma população) foi realizada através do método de análise PROBIT (FINNEY, 1972).

4.10 Dados Físicos e Espectroscópicos das Substâncias Isoladas

Octacosanol (SgFH-1a) e Hexacosanol (SgFH-1b)

Sólido amorfo branco, p.f. 81-82°C [Lit. 82-83°C (GUPTA; SESHADRI; SOOD, 1973)]

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): Figura 15, p. 91; Tabela 6, p. 90

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃): Figura 16, p. 91; Tabela 6, p. 90

DEPT (100 MHz, CDCl₃): Figura 17, p. 92; Tabela 6, p. 90

CG: Figura 18, p. 92.

EIEM: Figuras 19A e 19B, p. 93.

β-Sitosterol (SgFH-2; SgCH-1)

Sólido cristalino branco, p.f. 130-132°C [Lit.134-136°C (SULTANOVA et al., 2004)]

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): Figura 20, p. 96; Tabela 7, p. 95

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃): Figura 22, p. 97; Tabela 7, p. 95

DEPT (100 MHz, CDCl₃): Figura 23, p. 98; Tabela 7, p. 95

3-O-β-D-Glicopiranosilsitosterol (SgFH-3; SgFC-2; SgFAC-1; SgCAC-1)

Sólido branco, amorfo, p.f. 279-281°C [Lit. 285-287°C (LEE et al., 2006)]

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃/CD₃OD): Figura 21, p. 97; Tabela 7, pp. 95-96

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃/CD₃OD): Figura 24, p. 98 ; Tabela 7, pp. 95-96

DEPT (100 MHz, CDCl₃/CD₃OD): Figura 25, p. 99; Tabela 7, pp. 95-96

Ácido Siaresinólico (SgFC-1)

Sólido amorfo branco, p.f. 173-175°C

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃/CD₃OD): Figura 26, p. 104; Tabela 8, p. 102

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃/CD₃OD): Figura 28, p. 107; Tabela 8, p. 102

DEPT (100 MHz, CDCl₃/CD₃OD): Figura 29, p. 107; Tabela 8, p. 102

HSQC (¹H: 400; ¹³C: 100 MHz, CDCl₃/CD₃OD): Figura 32, p. 109

HMBC (¹H: 400; ¹³C: 100 MHz, CDCl₃/CD₃OD): Figura 34, p. 110

Ácido 3-O- α -L-rhamnopiranosil-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopiranosilsiarésinólico - Gottliebsídeo (SgFC-3)

Sólido amorfo branco, p.f. 180-181°C

RMN ^1H (400 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$): Figura 27, p. 105; Tabela 9, pp. 103-104

RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$): Figura 30, p. 108; Tabela 9, pp. 103-104

DEPT (100 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$): Figura 31, p. 108

HSQC (^1H : 400; ^{13}C : 100 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$): Figura 33, p. 109

HMBC (^1H : 400; ^{13}C : 100 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$): Figura 35, p. 110

IV (KBr) cm^{-1} : Figura 36, p. 111

Escopoletina (SgCC-1)

Sólido branco, amorfo, p.f. 197-199°C [Lit. 200-202°C (JEREZANO et al., 2011)]

RMN ^1H (400 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$): Figura 37, p. 113; Tabela 10, p. 113

RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$): Figura 38, p. 114; Tabela 10, p. 113

DEPT (100 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$): Figura 39, p. 114

HSQC (^1H : 400; ^{13}C : 100 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$): Figura 40, p. 115

HMBC (^1H : 400; ^{13}C : 100 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$): Figura 41, p. 115

Ácido Salicílico (SgCC-2)

Sólido cristalino branco, p.f. 151-153°C [Lit. 158°C (QIANG-GUO et al., 2008)]

RMN ^1H (400 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$): Figura 42, p. 118; Tabela 11, p. 117

RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$): Figura 44, p. 119; Tabela 11, p. 117

DEPT (100 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$): Figura 45, p. 120

Ácido Vanílico (SgCC-3)

Sólido cristalino branco, p.f. 209-211°C [Lit. 210-213°C (CURIR et al., 2003)]

RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD): Figura 43, p. 119; Tabela 12, p. 118

RMN ^{13}C (100 MHz, CD_3OD): Figura 46, p. 120; Tabela 12, p. 118

DEPT (100 MHz, CD_3OD): Figura 47, p. 121

Cafeato de Etila (SgCC-4)

Sólido amorfo alaranjado, p.f. 138-140°C [(Lit. 147-149°C (CHIANG et al., 2005)]

RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD): Figura 48, p. 123; Tabela 13, p. 122

RMN ^{13}C (100 MHz, CD_3OD): Figura 49, p. 123; Tabela 13, p. 122

DEPT (100 MHz, CD_3OD): Figura 50, p. 124

Harmana (PbFC-1; PbFC-3; PbFC-4, PbFAc-1 e PbCC-1)

Sólido branco cristalino, p.f. 231-233°C [Lit. 235-236°C (KUSURKAR; GOSWAMI, 2004)].

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃/CD₃OD): Figura 51, p. 130; Tabela 14, p. 128

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃/CD₃OD): Figura 53, p. 132; Tabela 14, p. 128

DEPT (100 MHz, CDCl₃/CD₃OD): Figura 54, p. 132

HSQC (¹H: 400; ¹³C: 100 MHz, CDCl₃/CD₃OD): Figura 55, p. 133

HMBC (¹H: 400; ¹³C: 100 MHz, CDCl₃/CD₃OD): Figura 56, p. 133

Ácido Strictosidínico (PbCAc-1)

Sólido amorfo alaranjado.

RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD): Figura 52, p. 131; Tabela 15, p. 129

RMN ¹³C (100 MHz, CD₃OD): Figura 57, p. 134; Tabela 15, p. 129

DEPT (100 MHz, CD₃OD): Figura 58, p. 134

HSQC (¹H: 400; ¹³C: 100 MHz, CD₃OD): Figura 59, p. 135

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Avaliação Preliminar da Atividade Antinociceptiva dos Extratos e Frações

O modelo químico de nocicepção induzido por ácido acético baseia-se na contagem das contorções da parede abdominal seguidas de torção do tronco e extensão dos membros posteriores, como resposta reflexa à irritação induzida pelo ácido acético. A administração intraperitoneal de ácido acético induz a liberação de prostaglandinas, mas também a liberação de mediadores (aminas - norepinefrina e acetilcolina) do sistema nervoso simpático (SOARES et al., 2009).

Os resultados obtidos no modelo experimental de nocicepção com extratos e frações de *S. grisea* e *P. barbiflora* estão apresentados nas Tabelas 4 (p. 86) e 5 (p. 87). O número médio de contorções induzidas por ácido acético em animais não tratados com extrato (grupos controles) foi de $39,4 \pm 2,5$ contorções para amostras de *S. grisea* e de $34,8 \pm 3,4$ contorções para as de *P. barbiflora*. Quando os animais foram tratados previamente com extratos (100 e 10 mg/kg, i.p.) e frações (10 mg/kg, i.p.) de *S. grisea* observou-se uma redução significativa na resposta nociceptiva dos animais destacando-se o extrato em etanol das folhas (79,05% de redução), as frações em hexano (60,63% de redução) e em CHCl_3 (70,16% de redução) das folhas e em CHCl_3 do caule (70,16% de redução). Merece destacar também que as frações com reações positivas para alcaloides (CHCl_3 , AcOEt e MeOH/H₂O) de *P. barbiflora* também apresentaram porcentagem de inibição superiores ou comparáveis ao da indometacina, um anti-inflamatório usado como fármaco de referência.

De acordo NONATO e cols. (2009) e GORZALCZANY e cols. (2011), extratos e frações, em doses ≤ 100 mg/kg (i.p.), com atividade antinociceptiva no modelo de nocicepção induzido por ácido acético, tem sido considerados de interesse farmacológico. Por esta razão, as frações ativas foram investigadas do ponto de vista químico com o objetivo de isolar e caracterizar os componentes responsáveis pelas atividades observadas.

Tabela 4 - Avaliação da atividade antinociceptiva dos extratos e frações de *S. grisea*, no teste de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético.

Parte da Planta	Grupo	Número de Contorções	Porcentagem de Inibição (%)
	Veículo	39,4 ± 2,5	-
Folhas	Ext. EtOH (100 mg/kg)	8,3 ± 2,8^{***}	79,05
	Ext. EtOH (10 mg/kg)	16,0 ± 2,0 ^{***}	59,37
	Fr. Hexano (10 mg/kg)	15,5 ± 2,4^{***}	60,63
	Fr. CHCl₃ (10 mg/kg)	11,7 ± 1,8^{***}	70,16
	Fr. AcOEt (10 mg/kg)	18,3 ± 1,9 ^{***}	53,65
	Fr. MeOH/H ₂ O (10 mg/kg)	17,5 ± 2,3 ^{***}	55,56
Caulé	Ext. EtOH (100 mg/kg)	20,0 ± 2,8 ^{***}	49,21
	Ext. EtOH (10 mg/kg)	26,3 ± 0,3 ^{**}	33,21
	Fr. Hexano (10 mg/kg)	19,7 ± 1,6 ^{***}	49,97
	Fr. CHCl₃ (10 mg/kg)	15,6 ± 0,8^{***}	60,38
	Fr. AcOEt (10 mg/kg)	19,6 ± 2,3 ^{***}	50,23
	Fr. MeOH/H ₂ O (10 mg/kg)	17,6 ± 4,1 ^{***}	55,31
	Indometacina (20 mg/kg)	15,6 ± 1,9^{***}	60,38

Todos os animais foram tratados por via intraperitoneal (i.p.) 1 h antes do estímulo álgico com extrato, frações, indometacina (controle) ou veículo. Valores expressos em Média ± EPM. ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ em relação ao grupo tratado com o veículo.

Tabela 5 - Avaliação da atividade antinociceptiva dos extratos e frações de *P. barbiflora* no teste de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético.

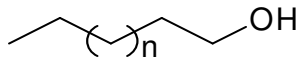
Parte da Planta	Grupo	Número de Contorções	Porcentagem de Inibição (%)
Controle (-)	Veículo	34,8 ± 3,4	-
Folhas	Ext. EtOH (100 mg/kg)	14,5 ± 1,8 ^{***}	58,33
	Ext. EtOH (10 mg/kg)	19,7 ± 3,1 ^{**}	43,39
	Fr. Hexano (10 mg/kg)	18,7 ± 1,3 ^{***}	46,17
	Fr. CHCl₃ (10 mg/kg)	9,5 ± 2,5^{***}	72,67
	Fr. AcOEt (10 mg/kg)	8,7 ± 1,6^{***}	74,87
	Fr. MeOH/H₂O (10 mg/kg)	9,2 ± 1,7^{***}	73,58
Caule	Ext. EtOH (100 mg/kg)	9,4 ± 2,6^{***}	72,98
	Ext. EtOH (10 mg/kg)	16,5 ± 2,3 ^{***}	52,58
	Fr. Hexano (10 mg/kg)	19,0 ± 2,1 ^{**}	45,40
	Fr. CHCl₃ (10 mg/kg)	8,3 ± 0,8^{***}	76,14
	Fr. AcOEt (10 mg/kg)	8,0 ± 1,0^{***}	77,01
	Fr. MeOH/H₂O (10 mg/kg)	9,8 ± 2,6^{***}	71,82
Controle (+)	Indometacina (20 mg/kg)	13,00 ± 2,1^{***}	62,67

Todos os animais foram tratados por via intraperitoneal (i.p.) 1 h antes do estímulo algíco com extrato, frações, indometacina (controle) ou veículo. Valores expressos em Média ± EPM. ^{**} $p < 0.01$; ^{***} $p < 0.001$ em relação ao grupo tratado com o veículo.

5.2 Substâncias Isoladas de *S. grisea* e *P. barbiflora*

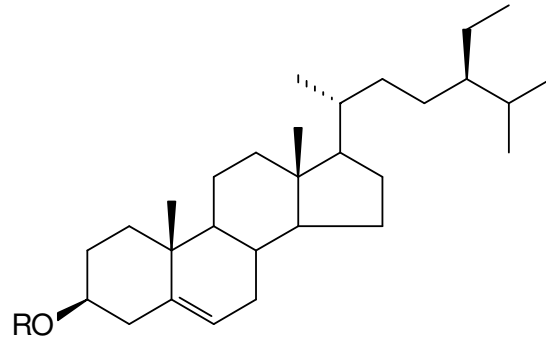
O estudo fitoquímico envolvendo as espécies *S. grisea* (**Sg**) e *P. barbiflora* (**Pb**) resultou no isolamento de 12 substâncias (Figura 14, p.88) que foram codificadas de acordo com o nome das espécies, das parte das plantas estudadas (**F** = Folhas e **C** = caule) e fração de partição (**H** = hexano, **C** = clorofórmio e **Ac** = AcOEt,) das quais foram isoladas.

Figura 14 - Substâncias isoladas de *Sabicea grisea* e *Psychotria barbiflora*



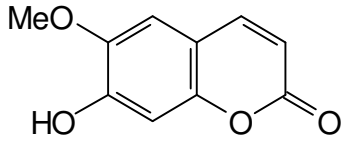
SgFH-1a $n = 24$

SgFH-1b $n = 22$

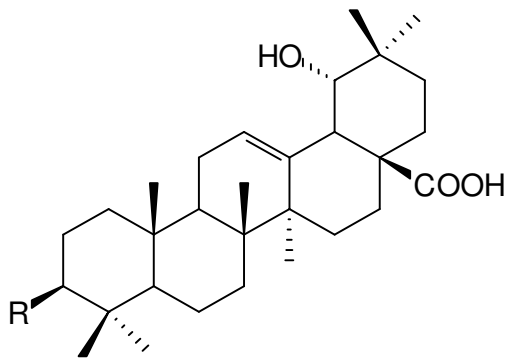


SgFH-2 (= SgCH-1) $R = H$

SgFH-3 (= SgFC-2, SgFAc-1 e SgCAc-1) $R = \beta\text{-D-Glc}$

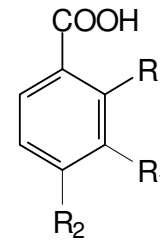


SgCC-1



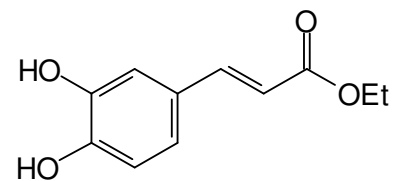
SgFC-1 $R = OH$

SgFC-3 $R = 3\text{-O-}\alpha\text{-L-Rha-(1}\rightarrow\text{2)-}\alpha\text{-L-Ara}$

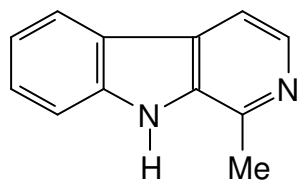


SgCC-2 $R = OH$ e $R_1 = R_2 = H$

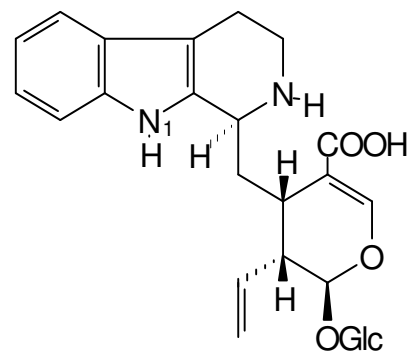
SgCC-3 $R = H$, $R_1 = OMe$ e $R_2 = OH$



SgCC-4



PbFC-1 (= PbFC-2, PbFC-3 e PbCC-1)



PbCAc-1

5.3 Identificação Estrutural das Substâncias Isoladas de *S. grisea*

5.3.1 Identificação Estrutural das Substâncias SgFH-1a e SgFH-1b

As substâncias codificadas de **SgFH-1a** (componente majoritário, ~90%) e **SgFH-1b** (componente minoritário, ~10%) foram identificadas como sendo uma mistura composta principalmente de dois alcoóis alifáticos saturados de cadeia longa com base na análise dos dados obtidos dos espectros de RMN, análise através de CG-EM, bem como pela comparação dos dados descritos na literatura.

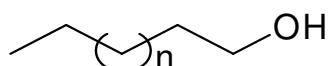
Os dados obtidos do espectro de RMN ^1H (Figura 15, p. 91; Tabela 6, p. 90) evidenciaram sinais cujos valores de deslocamentos químicos e multiplicidades estão compatíveis com a presença de hidrogênios metílicos [δ 0,88 (t, $J = 6,4$ Hz)] conectado a um grupo metilênico, de hidrogênios metilênicos carbinólicos [δ 3,64 (t, $J = 6,6$ Hz)], além de dois sinais largos referentes a hidrogênios metilênicos em série [δ 1,25 e 1,55 (CH_2)].

A análise conjunta dos espectros de RMN ^{13}C (Figura 16, p. 91) e experimento DEPT 135 (Figura 17, p. 92; Tabela 6, p. 90) revelou a presença de sinais cuja natureza e valores de deslocamentos químicos estão condizentes com a presença de um carbono metilênico carbinólico [δ 63,11 (CH_2)], um carbono metílico [δ 14,13 (CH_3)] e de sinais para vários grupos metilênicos saturados [δ 32,79 a 22,69 (CH_2)], sendo que um destes sinais [δ 29,69 (CH_2)] apresenta uma intensidade muito maior que a dos demais sinais. Estas informações permitiram sugerir que **SgFH-1a** e **SgFH-1b** possuem estruturas de alcoóis saturados primários de cadeias longas.

A verificação do grau de pureza de **SgFH-1** e a obtenção do número exato de átomos de carbono presentes foi efetuada através de análise CG-EM (Figura 18, p. 92), o qual indicou a presença do componente majoritário com um $T_R = 38,79$ min. e do minoritário em $T_R = 36,08$ min., cujos espectros de massas mostraram os picos de maiores massas em m/z 392 (Figura 19A, p. 93), em m/z 364 (Figura 19B, p. 93), respectivamente. Estes valores estão coerentes com as massas de alcoóis saturados contendo, respectivamente, 28 e 26 átomos de carbono após eliminação de uma molécula de H_2O [**SgFH-1a** ($\text{C}_{28}\text{H}_{57}\text{OH}$), M- H_2O) e **SgFH-1b** ($\text{C}_{26}\text{H}_{54}\text{OH}$), M- H_2O)]. Segundo RANKIN (1970) é comum a não visualização do íon molecular e perda de água em álcoois de cadeia longa, quando da detecção de íons positivos. Foi possível reconhecer nos espectros de massas de ambos (Figura 19, p. 93) um

padrão de fragmentação (m/z 153, 139, 125, 111, 97, 83, 69, 55, 41), perdas consecutivas de 14 u.m.a, confirmando a presença de cadeias alquílicas lineares saturadas.

Os dados espectrais discutidos, associados à análise comparativa com os descritos na literatura (HAMILL et al., 2003) permitiram identificar **SgFH-1a** e **SgFH-1b** como sendo alcoóis saturados de cadeia longa conhecidos, respectivamente, como **Octacosanol** (98) e **Hexacosanol** (99). **Octacosanol** é um composto encontrado em abundância nos óleos de gérmen de trigo e do farelo de arroz, bem como em muitas outras plantas (IRMAK; DUNFORD, 2005). Este composto tem sido relatado como antioxidante, antiparkinsoniano, antiangiogênico e ergogênico (SAINT-JOHN, 1986; THIPPESWAMY; SHEELA; SALIMATH, 2008 e WANG et al., 2010); enquanto que o **Hexacosanol** causou regeneração de axônios em nervo ciático lesionado (AZZOUZ et al., 1996), bem como efeito preventivo da nefropatia diabética (SAITO et al., 2006).



SgFH-1a $n = 24$ (98)

SgFH-1b $n = 22$ (99)

Tabela 6 - Dados de RMN (^1H : 400; ^{13}C : 100 MHz, CDCl_3 , δ , Hz) das substâncias codificadas de SgFH-1a e SgFH-1b e comparação com os dados da literatura do *Octacosanol* (CDCl_3 , HAMILL et al., 2003).

Posição	SgFH-1a e SgFH-1b		<i>Octacosanol</i>	
	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}
1	63,11	3,64 (t, $J = 6,6$)	63,5	3,65 (t, $J = 6,4$)
2	32,79	1,55 (sl)	33,2	1,58 (m)
3	25,72	1,25 (sl)	26,1	1,26 (sl)
(4-25)	(29,36 - 29,69)	1,25 (sl)	(29,8 - 30,1)	1,26 (sl)
26	31,92	1,25 (sl)	32,3	1,26 (sl)
27	22,69	1,25 (sl)	23,1	1,26 (sl)
Me	14,13	0,88 (t, $J = 6,4$)	14,5	0,89 (t, $J = 6,6$)

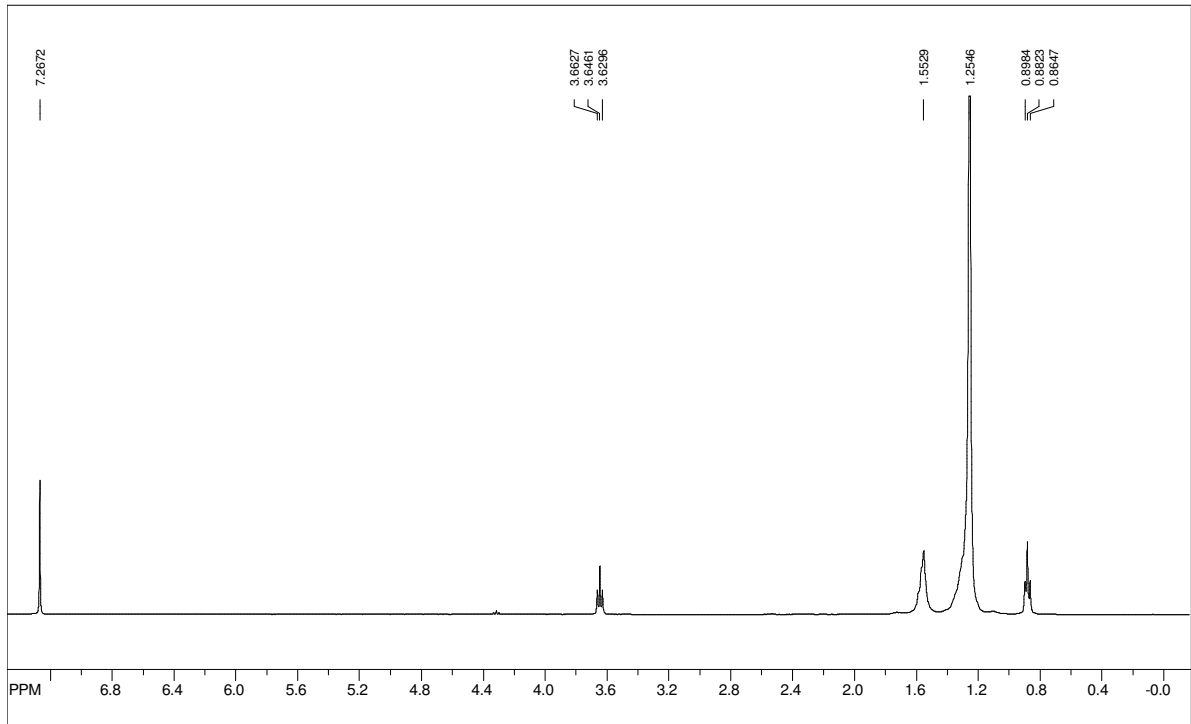
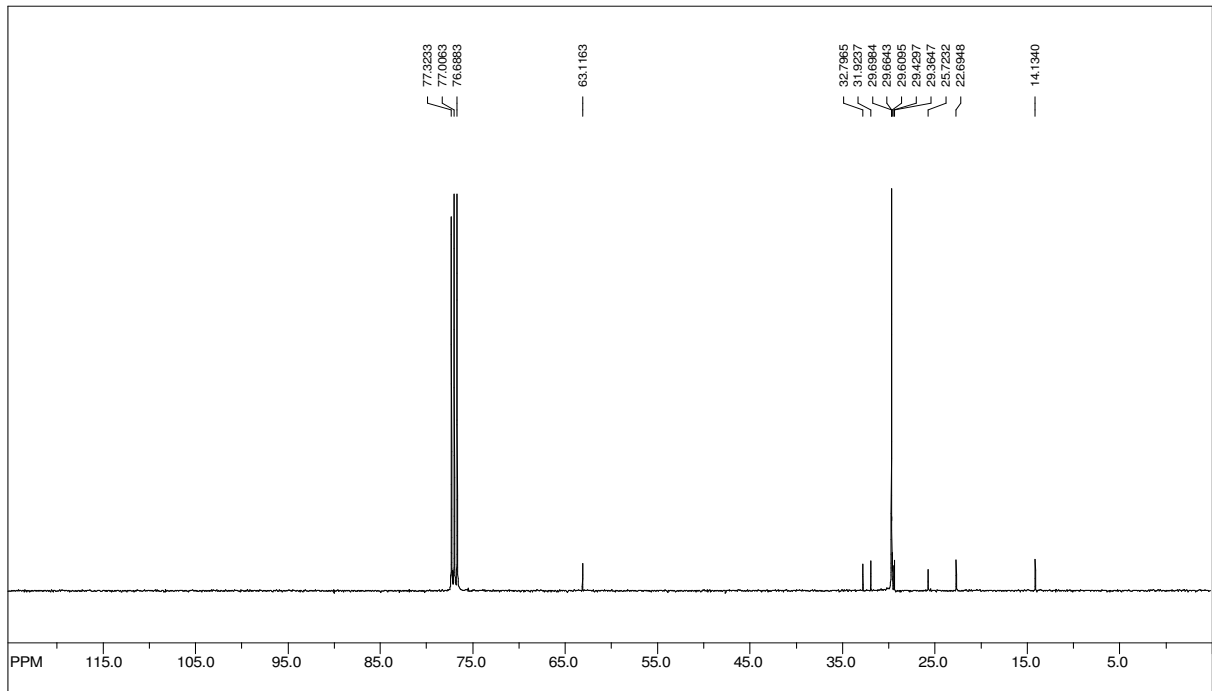
Figura 15 - Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) das substâncias SgFH-1a e SgFH-1b.**Figura 16 - Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) das substâncias SgFH-1a e SgFH-1b.**

Figura 17 - Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135 (100 MHz, CDCl_3) das substâncias SgFH-1a e SgFH-1b.

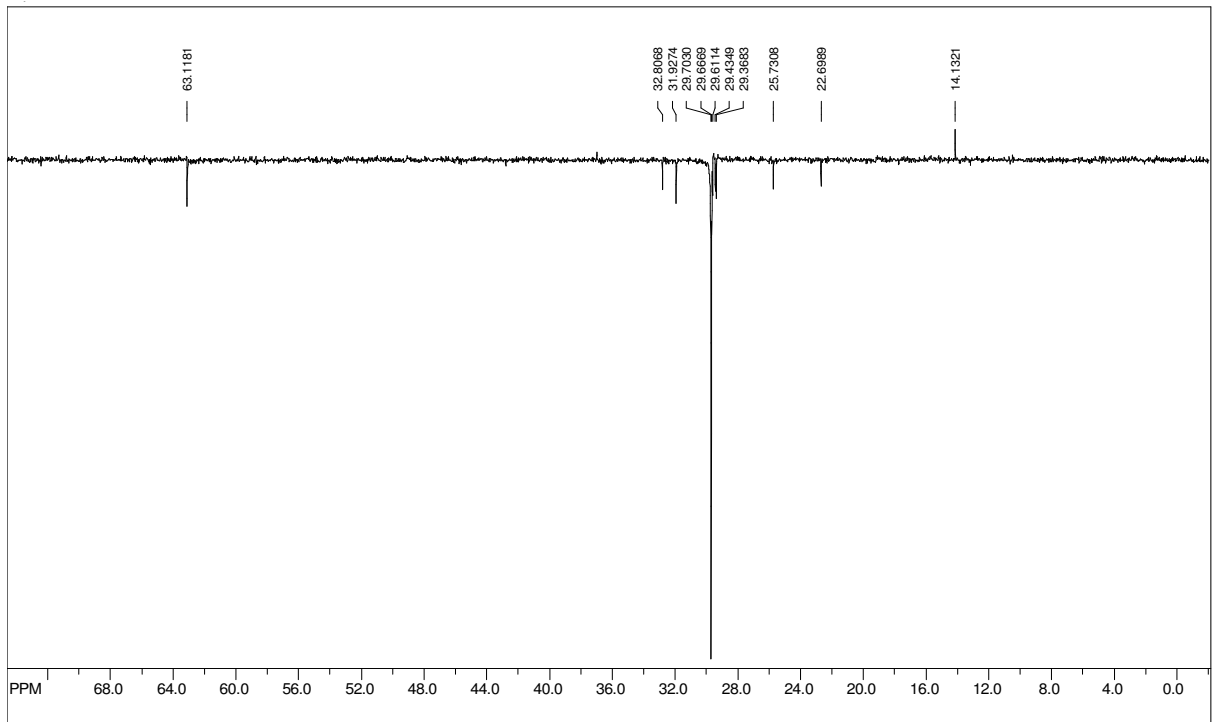


Figura 18 - Perfil cromatográfico das substâncias SgFH-1a e SgFH-1b.

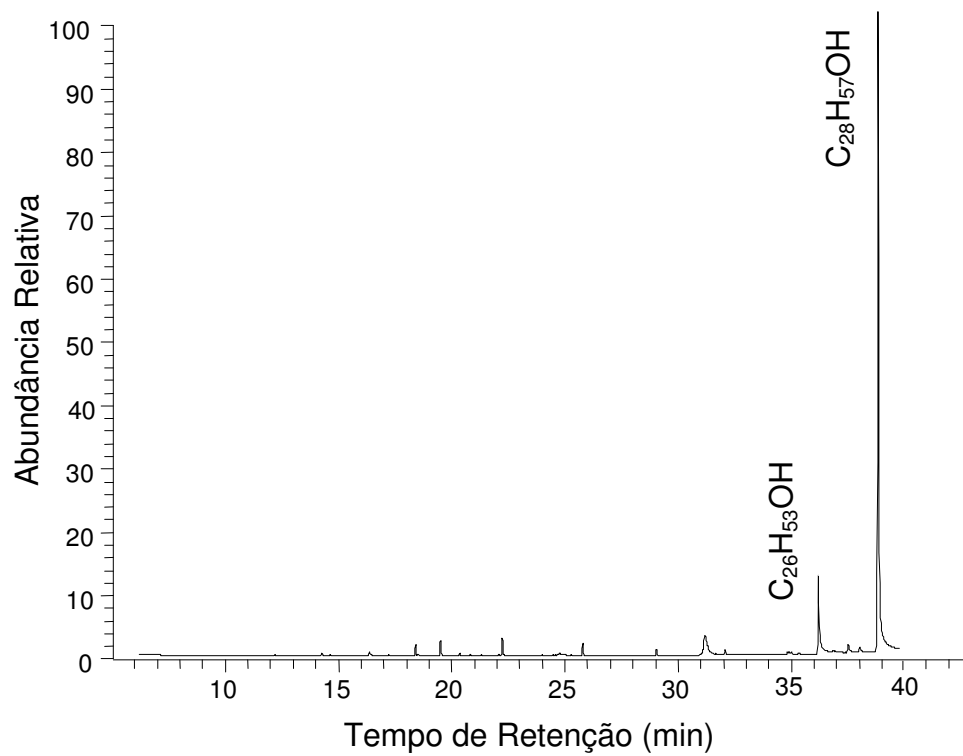
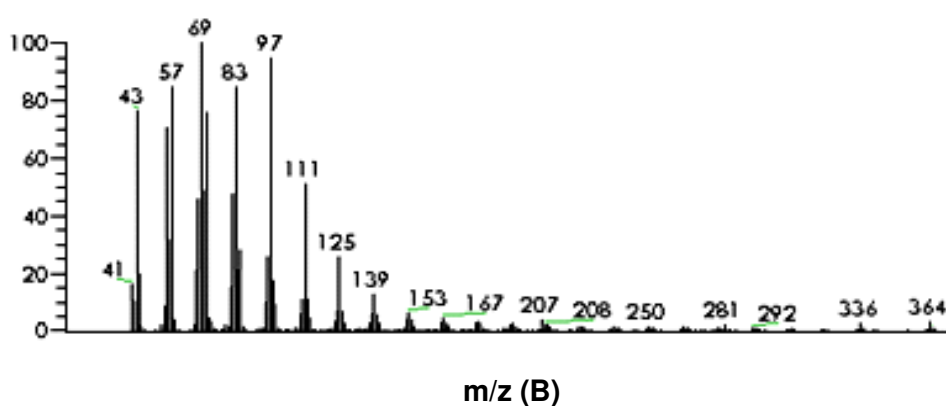
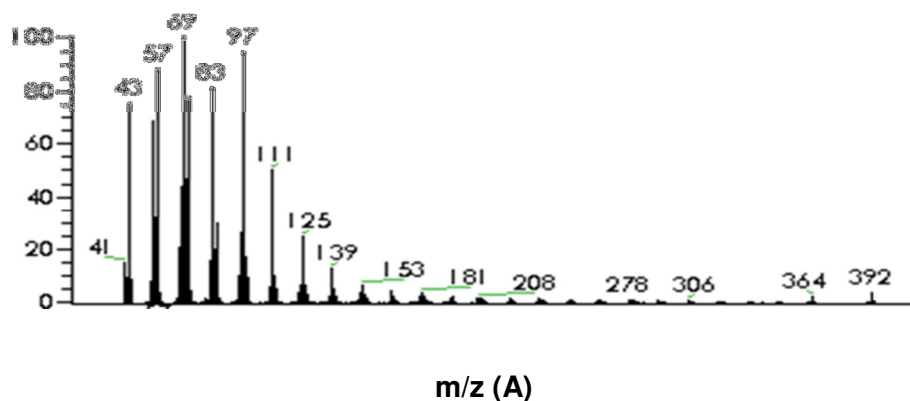


Figura 19 - Espectros de massas das substâncias SgFH-1a (A) e SgFH-1b (B).



5.3.2 Identificação Estrutural das Substâncias SgFH-2 e SgFH-3

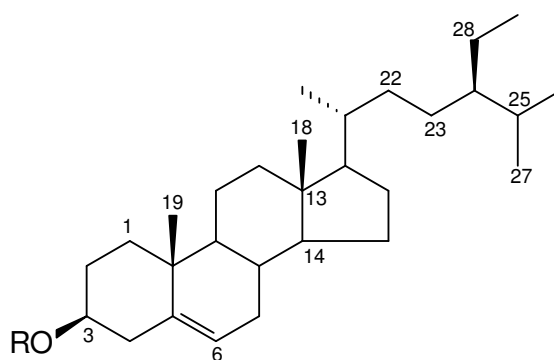
As substâncias codificadas de **SgFH-2** e **SgFH-3** foram identificadas como sendo fitoesteróides da série estigmastano com base na análise dos dados obtidos dos respectivos espectros de RMN, bem como pela comparação com o dados da literatura (MACARI; EMERENCIANO; FERREIRA, 1990; BAYOUMI et al., 2010).

A análise dos dados obtidos dos espectros de RMN ^1H das substâncias **SgFH-2** (Figura 20, p. 96; Tabela 7, p. 95) e **SgFH-3** (Figura 21, p. 97; Tabela 7, pp. 95-96) evidenciou valores de deslocamentos químicos compatíveis com a presença de hidrogênios ligados a carbonos oximetínicos [**SgFH-2**: δ 3,46 (m, H-3) e **SgFH-3**: δ 4,00-3,94 (m, H-3)], hidrogênios ligados a carbonos sp^2 [**SgFH-2**: δ 5,29 (sl, H-6) e **SgFH-3**: δ 5,33 (sl, H-6)] e para vários grupos metilas (**SgFH-2**: δ 0,60 a δ 0,93 e **SgFH-3**: δ 0,63 a δ 0,97). Adicionalmente, foi observado no espectro de **SgFH-3** sinais que sugerem a presença de uma unidade glicopiranosídica, cujo valor da constante de acoplamento do hidrogênio anomérico [δ 5,06 (d, $J = 7,6$ Hz, H-1')] sugeriu um acoplamento diaxial entre H-1 e H-2 desta unidade.

Os dados obtidos dos espectros de RMN ^{13}C e DEPT 135 de **SgFH-2** (Figuras 22-23, pp. 97-98; Tabela 7, p. 95) e **SgFH-3** (Figuras 24-25, pp. 98-99; Tabela 7, pp. 95-96) permitiram reconhecer valores de deslocamento químicos característicos de carbonos sp^3 oxigenados [**SgFH-2**: δ 71,82 (CH, C-3) e **SgFH-3**: δ 78,06 (CH, C-3)], carbonos para ligação dupla do tipo trissubstituída [**SgFH-2**: δ 121,75 (CH, C-6) e δ 140,74 (C, C-5); **SgFH-3**: 121,90 (CH, C-6) e δ 140,87 (C, C-5)], compatíveis com ligação dupla entre C5 e C6 de um núcleo estigmastano. Foram observados, ainda, no espectro de **SgFH-3** seis sinais cuja natureza dos carbonos e valores de deslocamento estão compatíveis para uma unidade 3-O- β -D-glicopiranosídica (BAYOUMI et al., 2010).

A análise conjunta dos dados espectrais permitiu identificar **SgFH-2** e **SgFH-3** como sendo os fitoesteróides conhecidos, respectivamente, como **β -Sitosterol (100)** (Estigmasta-5-en-3 β -ol) e **3-O- β -D-glicopiranosilsitosterol (101)**. Estas propostas estruturais foram confirmadas pela comparação dos dados de RMN ^{13}C obtidos com os dos compostos correspondentes descritos na literatura.

O **β -Sitosterol** têm reconhecida atividade inibidora da agregação plaquetária induzida pelo ácido araquidônico (PARMAR et al., 1997), na hiperplasia prostática benigna – HBP (BERGES et al., 1995), inibitória de carcinomas de próstata (AWAD et al., 2001), aumento da eficácia do Tamoxifeno[®] frente células neoplásicas da mama (AWAD et al., 2008), antinociceptiva (SANTOS et al., 1995; CATAPAN et al., 2000) e anti-inflamatória (VALERIO; AWAD, 2011). O **3-O- β -D-glicopiranosilsitosterol** inibe a eucariótica DNA polimerase λ (MIZUSHINA et al., 2006), além de atividade amebicida e giardicida (ARRIETA et al., 2001).



SgFH-2 R = H (100)

SgFH-3 R = β -D-Gli (101)

Tabela 7 - Dados de RMN (^1H : 400; ^{13}C : 100 MHz, δ , Hz) das substâncias SgFH-2 (CDCl_3) e SgFH-3 ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) e comparação com os dados da literatura do β -Sitosterol (CDCl_3 , MACARI; EMERENCIANO; FERREIRA, 1990) e do 3-O- β -Glicopiranosilsitosterol ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, BAYOUMI et al., 2010).

Posição	SgFH-2		SgFH-3		β -Sitosterol	3-O- β -D-Glc-Sitosterol
	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{C}
1	37,23		37,44		37,30	37,50
2	31,64		30,21		31,60	30,20
3	71,82	3,46 (m)	78,06	4,00-3,94 (m)	71,70	78,10
4	42,27		39,30		42,30	39,50
5	140,74		140,87		140,80	140,90
6	121,75	5,29 (sl)	121,90	5,33 (sl)	121,60	121,90
7	31,90		32,13		31,90	32,20
8	31,88		32,01		31,90	32,00
9	50,10		50,31		50,20	50,30
10	36,49		37,44		36,50	36,90
11	21,07		21,25		21,10	21,30
12	39,75		39,91		39,80	39,90
13	42,31		42,45		42,30	42,50
14	56,75		56,78		56,80	56,80
15	24,30		24,47		24,30	24,50
16	28,25		28,50		28,30	28,50
17	56,02		56,21		56,10	56,20
18	11,86	0,60 (s)	11,94	0,63 (s)	11,90	12,00
19	19,84	0,93 (s)	19,17	0,91 (s)	19,40	19,20
20	36,14		36,35		36,10	36,40
21	18,77	0,85 (d, $J = 6,5$)	18,97	0,97 (d, $J = 6,4$)	18,80	19,00
22	33,91		34,17		34,00	34,20
23	26,00		26,34		26,40	26,40
24	45,80		46,00		46,10	46,00
25	29,10		29,42		29,00	29,40
26	19,40	0,72-0,79 (m)	19,94	0,83-0,89 (m)	19,10	20,00
27	19,02	0,72-0,79 (m)	19,38	0,83-0,89 (m)	19,10	19,40
28	23,00		23,38		23,10	23,40
29	11,98	0,72-0,79 (m)	12,12	0,83-0,89 (m)	12,30	12,10

(Continua)

Figura 21 - Espectro de RMN ^1H (400 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) da substância SgFH-3.

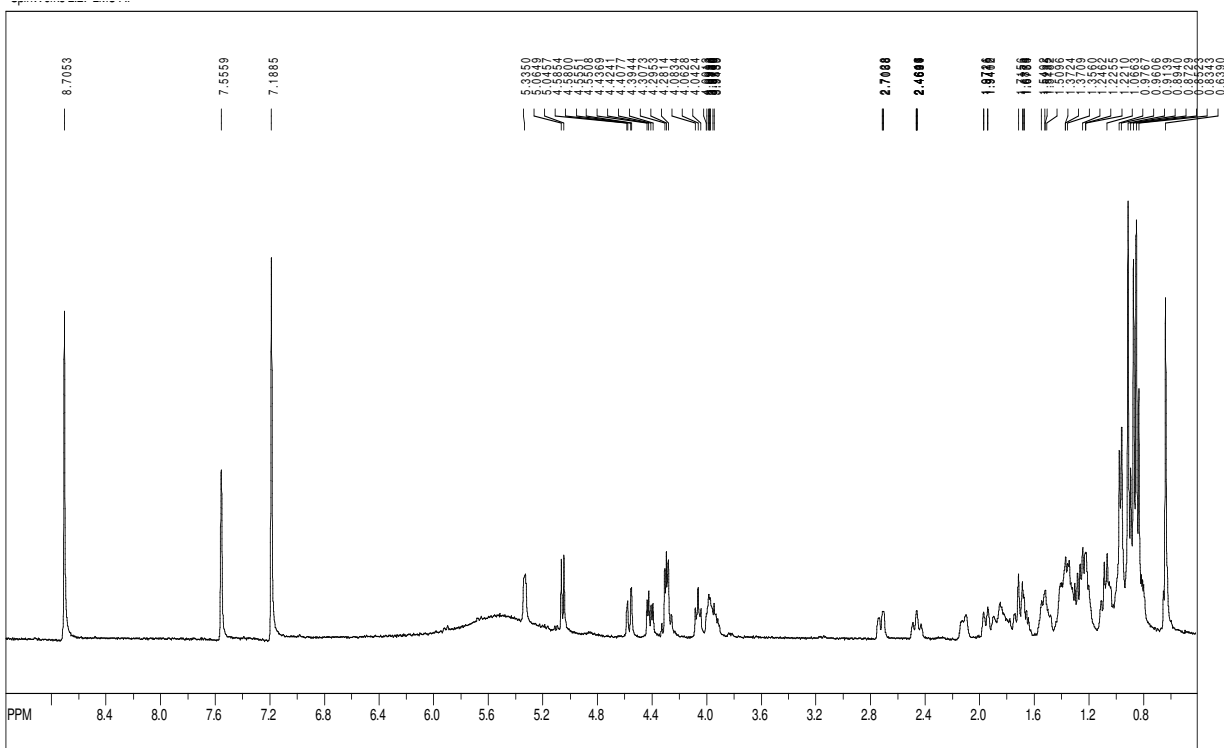


Figura 22 - Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da substância SgFH-2.

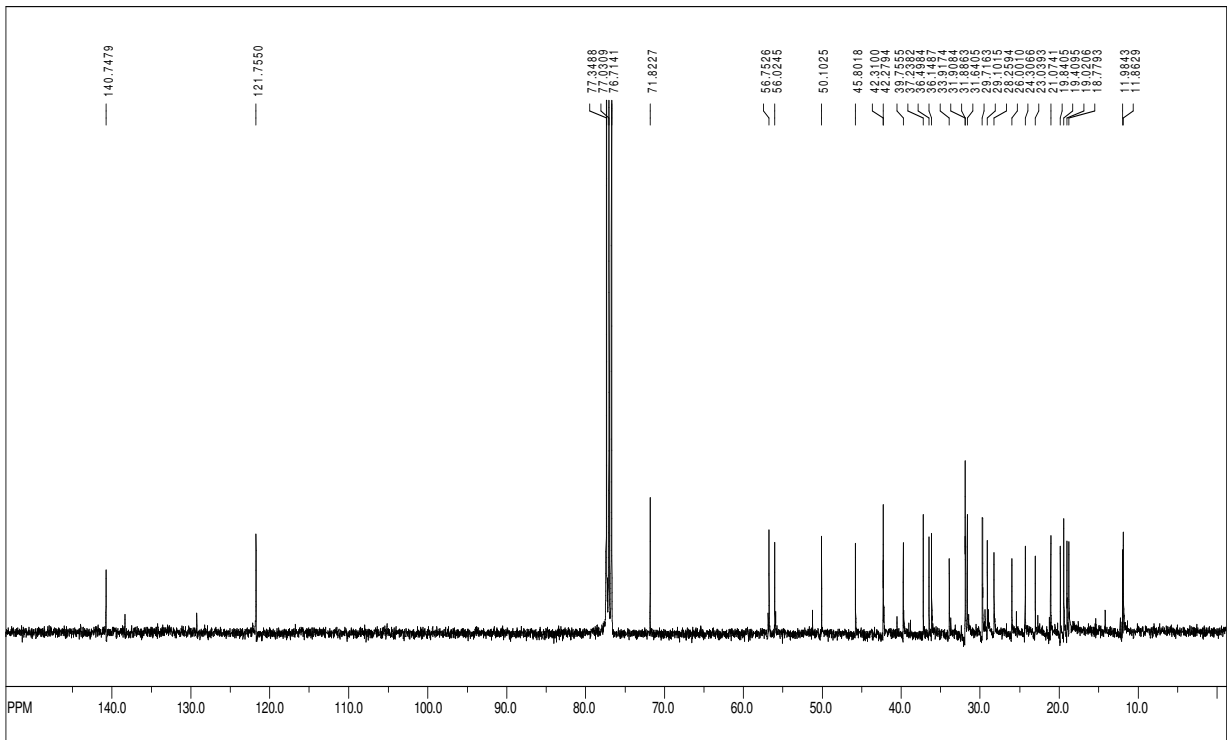
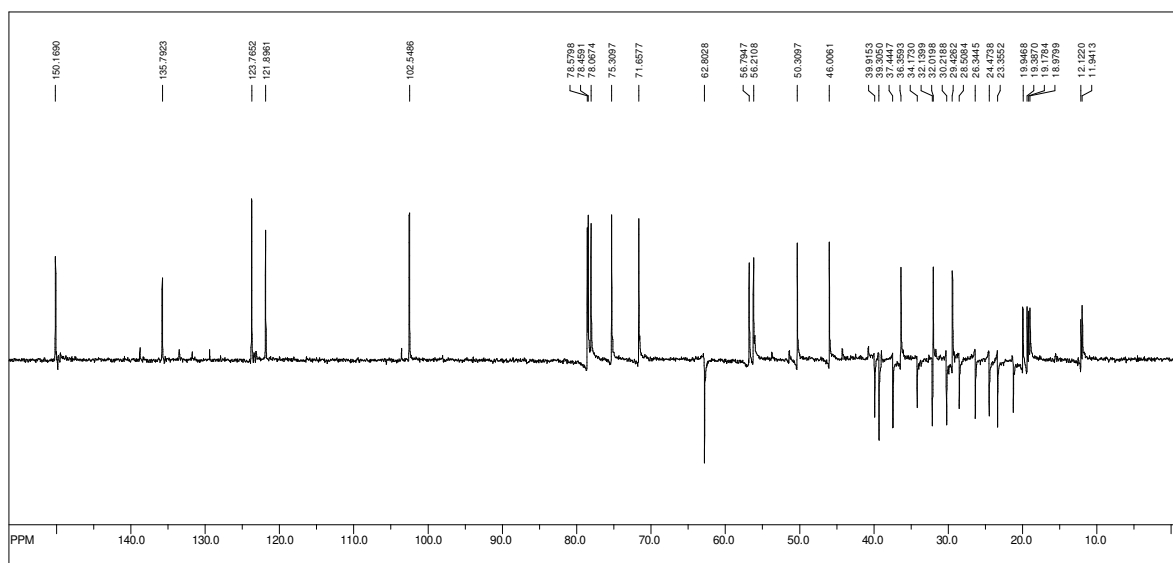


Figura 25 - Espectro RMN ^{13}C -DEPT 135 (100 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) da substância SgFH-3.



5.3.3 Identificação Estrutural das Substâncias SgFC-1 e SgFC-3

As substâncias codificadas de **SgFC-1** e **SgFC-3** foram identificadas como sendo triterpenos pentacíclicos da série oleanano com base na análise dos dados obtidos dos respectivos espectros de RMN, incluindo DEPT, HSQC e HMBC, bem como pela comparação com dados descritos na literatura.

Os dados obtidos dos respectivos espectros de RMN ^1H das substâncias **SgFC-1** (Figura 26, p. 104-105; Tabela 8, p. 102) e **SgFC-3** (Figura 27, pp. 105-106; Tabela 9, pp. 103-104) revelaram valores de deslocamentos químicos compatíveis com a presença de hidrogênios ligados a carbonos metínicos oxigenados [**SgFC-1**: δ 3,15 (dd, $J = 10,2$ e $5,0$ Hz, H-3) e δ 3,27 (d, $J = 3,5$ Hz, H-19); **SgFC-3**: δ 3,12 (dd, $J = 11,1$ e $3,9$ Hz, H-3) e δ 3,25 (d, $J = 3,5$ Hz, H-19)], hidrogênios olefínicos [**SgFC-1**: δ 5,35 (sl, H-12) e **SgFC-3**: δ 5,31 (sl, H-12)], metínicos [**SgFC-1**: δ 3,05 (sl, H-18) e **SgFC-3**: δ 3,05 (sl, H-18)], além de sinais simples correspondentes a sete grupos metilas em cada. No espectro de **SgFC-3** foram observados, ainda, sinais para um grupo metila [δ 1,21 (d, $J = 6,2$ Hz, H-6'')] e vários sinais (δ 3,38 a 5,06) condizentes com a presença de uma unidade dissacarídica, cujas constantes de acoplamento dos hidrogênios anoméricos [**SgFH-3**: δ 5,06 (d, $J = 1,2$ Hz, H-1''), δ 4,57 (d, $J = 4,1$ Hz, H-1')] sugerem unidades dos tipos α -L-rhamnopiranosídica e α -L-piranosídica (SAHPAZ; GUPTA; HOSTETTMANN, 2000).

A análise conjunta dos espectros de RMN ^{13}C e DEPT 135 de **SgCH-1** (Figuras 28-29, p. 107; Tabela 8, p. 102) e de **SgCH-3** (Figuras 30-31, pp. 108;

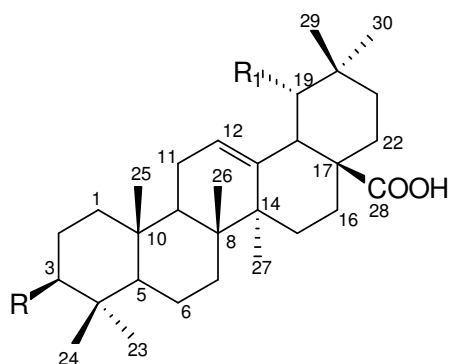
Tabela 9, pp. 103-104) permitiu reconhecer sinais, cujos valores de deslocamento químicos estão coerentes com o esqueleto olean-12-eno [**SgFC-1**: δ 124,97 (CH, C-12) e δ 143,48 (C, C-13); **SgFC-3**: δ 124,73 (CH, C-12) e δ 144,39 (C, C-13)], sinais de carbonos sp^3 oxigenados [**SgFC-1**: δ 79,21 (CH, C-3) e δ 82,02 (CH, C-19); **SgFC-3**: δ 90,64 (CH, C-3) e δ 82,37 (CH, C-19)] e um carbono de carboxila [**SgFC-1**: δ 181,75 (CH, C-28)]. Foram observados, ainda, no espectro de **SgFH-3** onze sinais cuja natureza e valores de deslocamento estão compatíveis com a presença de uma unidade do tipo α -L-rhamnopiranosila e outra α -L-arabinopiranosila. As correlações observadas no mapa de contorno dos espectros bidimensionais HSQC de **SgFC-1** (Figura 32, p. 109) e de **SgFC-3** (Figura 33, p. 109) permitiram definir as atribuições dos deslocamentos químicos dos hidrogênios ligados aos seus respectivos carbonos. A desproteção observada (\sim 11ppm) para o C-3 de **SgFC-3** (δ 90,64), quando comparado com o correspondente de **SgFC-1** (δ 79,21) e do **Ácido oleanólico (102)** (δ 78,7), permitiu inferir em **SgFC-3** a unidade dissacarídica neste carbono (MAHATO; KUNDU, 1994). Esta informação foi confirmada com base nas correlações observadas nos mapas de contornos dos respectivos espectros HMBC (Figuras 34-35, pp. 110), principalmente entre C-3 de **SgFC-1** (δ 79,21) e de **SgFC-3** (δ 90,64) com H-23 (**SgFC-1**: δ 0,93; **SgFC-3**: δ 1,00) e H-24 (**SgFC-1**: δ 0,74; **SgFC-3**: δ 0,83).

Os valores de deslocamentos químicos e de constantes de acoplamento, bem como a multiplicidade do sinal atribuído ao H-19 [**SgFC-1**: δ 3,27 (d, $J = 3,5$ Hz); **SgFC-3**: δ 3,25 (d, $J = 3,5$ Hz)] sugeriram para ambos a presença de um grupo *alfa*-hidroxi neste carbono. Esta proposição foi apoiada pela ausência nos respectivos espectros de RMN ^{13}C de um sinal referente a um carbono metilênico (\sim 46 ppm), pelo efeito *gamma-gauche* de proteção observado para Me-29 de **SgFC-1** (δ 28,31) e de **SgFC-3** (δ 28,63) quando comparado com a Me-29 de triterpenos contendo esqueletos oleananos (\sim 33 ppm) (MAHATO; KUNDU, 1994), bem como pelas correlações observadas nos mapas de contornos dos respectivos espectros HMBC, especialmente entre C-19 de **SgFC-1** (δ 82,02) e de **SgFC-3** (δ 82,37) com H-29 (**SgFC-1**: δ 0,87; **SgFC-3**: δ 0,92) e H-30 (**SgFC-1**: δ 0,93; **SgFC-3**: δ 0,95).

As correlações observadas no espectro bidimensional HMBC de **SgFC-3** (Figura 35, p. 112) entre H-1' (δ 4,57) com C-3 (δ 90,64) e de H-1'' (δ 5,06) com C-2' (δ 76,51) definiram a posição 1 \rightarrow 2 para conexão das duas unidades [3-O- α -L-rhamnopiranosil-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopiranosídica].

O espectro de RMN ^{13}C de **SgFC-3** não mostrou a presença de sinal para um grupo carboxila. A atribuição deste grupo em C-28 foi inicialmente sugerida pela comparação dos deslocamentos químicos de C-16 (δ 29,28), C-17 (δ 46,53) e C-22 (δ 33,74) com os respectivos carbonos de **SgFC-1** [δ 27,99 (C-16), δ 45,76 (C-17) e δ 33,14 (C-22)]. Além disso, uma substituição de um grupo carboxila por uma metila em C-28 causaria uma desproteção (\sim 4 e 5 ppm) em C-16 e C-22 e uma proteção (\sim 14 ppm) em C-17 (MAHATO; KUNDU, 1994). A confirmação deste grupo foi obtida através da análise do espectro na região do infravermelho (Figura 36, p. 111) que revelou uma banda característica de estiramento de grupo carbonila (1690 cm^{-1}) de ácido carboxílico (SILVERTEIN; WEBSON; KIEMLE, 2007).

A análise conjunta dos dados espectrais discutidos e a comparação com dados de compostos descritos na literatura (SAHPAZ; GUPTA; HOSTETTMANN, 2000; WANG et al., 2011) permitiram propor para **SgFC-1** a estrutura de um triterpeno pentacíclico da série oleanano conhecido como **Ácido siaresinólico (103)** e para **SgFC-3**, um novo triterpeno pentacíclico elucidado como **Ácido 3-O- α -L-rhamnopiranosil-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopiranosilsiaresinólico (104**, nomeado de **Gottliebsídeo** – uma singela homenagem ao maior Químico em Produtos Naturais do Brasil, Otto Richard Gottlieb). A revisão efetuada evidenciou somente a existência de um composto natural análogo com esqueleto urs-12-eno (BAYKAL, 1999).

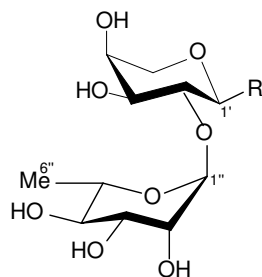


102 R = OH e R₁ = H

SgFC-1 R = R₁ = OH (**103**)

SgFC-3 R = 3-O- α -L-Rha-(1 \rightarrow 2)- α -L-Ara; R₁ = OH (**104**)

α -L-Rha-(1 \rightarrow 2)- α -L-Ara =



O **Ácido siaresinólico**, em estudo com células leucêmicas humanas HL-60, demonstrou ação antiproliferativa (WANG et al., 2006).

Tabela 8 - Dados de RMN (^1H : 400; ^{13}C : 100 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$, δ , Hz) da substância codificada de SgFC-1 e comparação com os dados do **Ácido siaresinólico (CD_3OD , WANG et al., 2011) e **Ácido oleanólico** (MAHATO; KUNDU, 1994).**

Posição	SgFC-1		Ácido Siaresinólico		Ácido Oleanólico
	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1	38,84		38,70		38,50
2	27,09		26,80		27,40
3	79,21	3,15 (dd, $J = 10,2$ e 5,0)	78,60	3,15 (dd, $J = 10,0$ e 4,4)	78,70
4	39,19		38,50		38,70
5	55,89		55,70		55,20
6	18,96		18,50		18,30
7	33,21		32,80		32,60
8	40,00		39,60		39,30
9	48,35		47,70		47,60
10	37,62		37,20		37,00
11	24,20		23,90		23,10
12	124,97	5,35 (sl)	123,70	5,33 (t, $J = 3,4$)	122,10
13	143,48		143,40		143,40
14	41,80		41,40		41,60
15	28,62		28,30		27,70
16	27,99		27,50		23,40
17	45,76		45,50		46,60
18	44,30	3,05 (sl)	44,00	3,06 (sl)	41,30
19	82,02	3,27 (d, $J = 3,5$)	81,30	3,26 (d, $J = 4,1$)	45,60
20	35,17		34,90		30,60
21	28,66		28,40		33,80
22	33,14		32,80		32,80
23	28,33	0,93 (s)	27,60	0,99 (s)	28,10
24	15,88	0,74 (s)	15,10	0,80 (s)	15,60
25	15,46	0,92 (s)	14,60	0,95 (s)	15,30
26	17,23	0,71 (s)	16,60	0,79 (s)	16,80
27	24,85	1,23 (s)	24,00	1,31 (s)	26,0
28	181,75		181,10		181,00
29	28,31	0,87 (s)	27,50	0,95 (s)	33,10
30	25,02	0,93 (s)	24,00	0,98 (s)	23,60

Tabela 9 - Dados de RMN (^1H : 400; ^{13}C : 100 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$, δ , Hz) da substância SgFC-3 e comparação com os dados de 3-O- α -L-Rhamnopiranosil-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopiranosilsiarresinolato de 28-O- β -D-glicopiranosila (CD_3OD ; SAHPAZ; GUPTA; HOSTETTMANN, 2000).

Posição	SgFC-3		3-O- α -L-Rha-(1 \rightarrow 2)- α -L-Ara-siarresinolato de 28-O- β -D-Glc	
	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{C}
1	39,47		39,97	
2	26,77		26,99	
3	90,64	3,12 (dd, $J = 11,1$ e $3,9$)	90,71	3,11 (dd, $J = 11,2$ e $3,9$)
4	40,10		40,26	
5	56,83		57,03	
6	19,34		19,50	
7	33,87		33,87	
8	40,54		40,87	
9	48,95		48,49	
10	37,89		37,87	
11	24,63		24,72	
12	124,73	5,31 (sl)	124,96	5,32 (sl)
13	144,39		144,29	
14	42,38		42,61	
15	29,28		29,45	
16	29,28		28,45	
17	46,53		47,12	
18	44,93	3,05 (sl)	45,06	3,05 (sl)
19	82,37	3,25 (d, $J = 3,5$)	82,45	3,27 (d, $J = 3,5$)
20	35,84		35,95	
21	29,34		29,67	
22	33,74		33,27	
23	28,57	1,00 (s)	28,61	1,01 (s)
24	16,91	0,83 (s)	17,01	0,84 (s)
25	15,80	0,92 (s)	15,94	0,95 (s)
26	17,65	0,75 (s)	17,61	0,78 (s)
27	25,07	1,26 (s)	25,01	1,29 (s)
28	-		178,54	
29	28,63	0,92 (s)	28,67	0,95 (s)
30	25,14	0,95 (s)	25,19	0,95 (s)

(Continua)

Tabela 9 (Continuação)

3-O-			Arabinose	
1'	104,30	4,57 (d, $J = 4,1$)	104,74	4,55 (d, $J = 4,4$)
2'	76,51	3,77-3,86 (m)	76,81	3,77-3,85 (m)
3'	72,49	3,77-3,86 (m)	72,99	3,77-3,85 (m)
4'	67,75	3,77-3,86 (m)	68,32	3,77-3,85 (m)
5a'	63,07	3,48 (dd, $J = 11,0$ e $1,2$)	63,64	3,48 (dd, $J = 11,8$ e $3,0$)
5b'	63,07	3,77-3,86 (m)		3,77-3,85 (m)
Terminal			Rhamnose	
1''	101,80	5,06 (d, $J = 1,2$)	102,01	5,09 (d, $J = 0,9$)
2''	71,97	3,88 (dd, $J = 3,0$ e $1,4$)	72,15	3,88 (dd, $J = 3,4$ e $1,5$)
3''	71,90	3,38-3,81(m)	72,15	3,38-3,81(m)
4''	73,66	3,38-3,81(m)	73,87	3,38-3,81(m)
5''	70,04	3,38-3,81(m)	70,21	3,38-3,81(m)
6''	17,95	1, 21 (d, $J = 6,2$)	17,99	1,23 (d, $J = 5,9$)
28-O-			Glicose	
1'''			95,76	5,32 (d, $J = 8,3$)
2'''			73,86	3,32 -3,40 (m)
3'''			78,54	3,32 -3,40 (m)
4'''			71,07	3,32 -3,40 (m)
5'''			78,28	3,32 -3,40 (m)
6a'''			62,38	3,70 (m)
6b'''			62,38	3,82 (m)

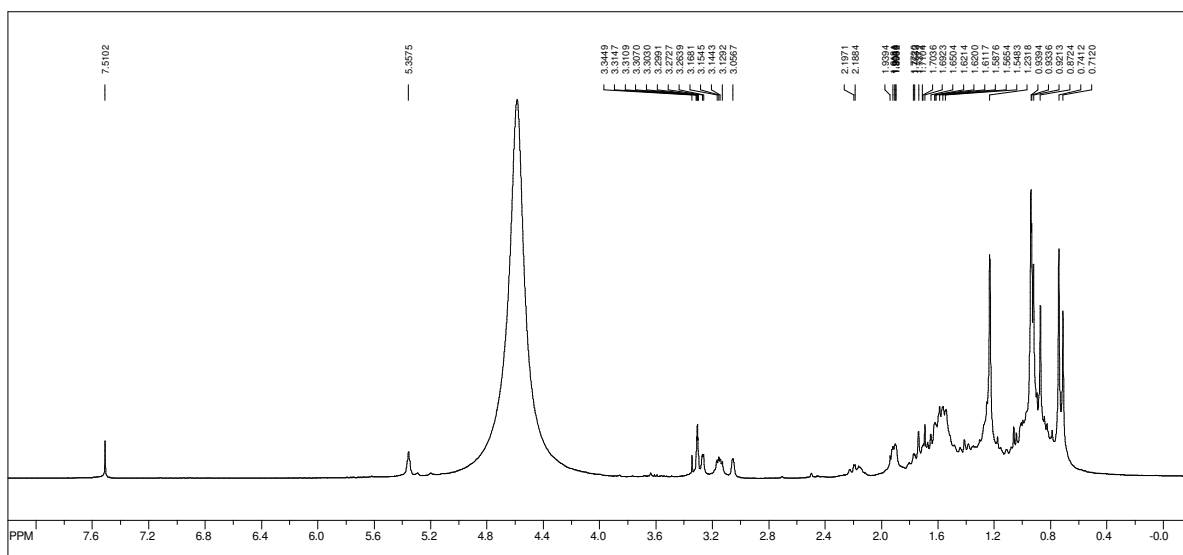
Figura 26A - Espectro de RMN ^1H (400 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) da substância SgFC-1.

Figura 26B - Espectro de RMN ^1H (400 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) ampliado (δ 2,94-3,40) da substância SgFC-1.

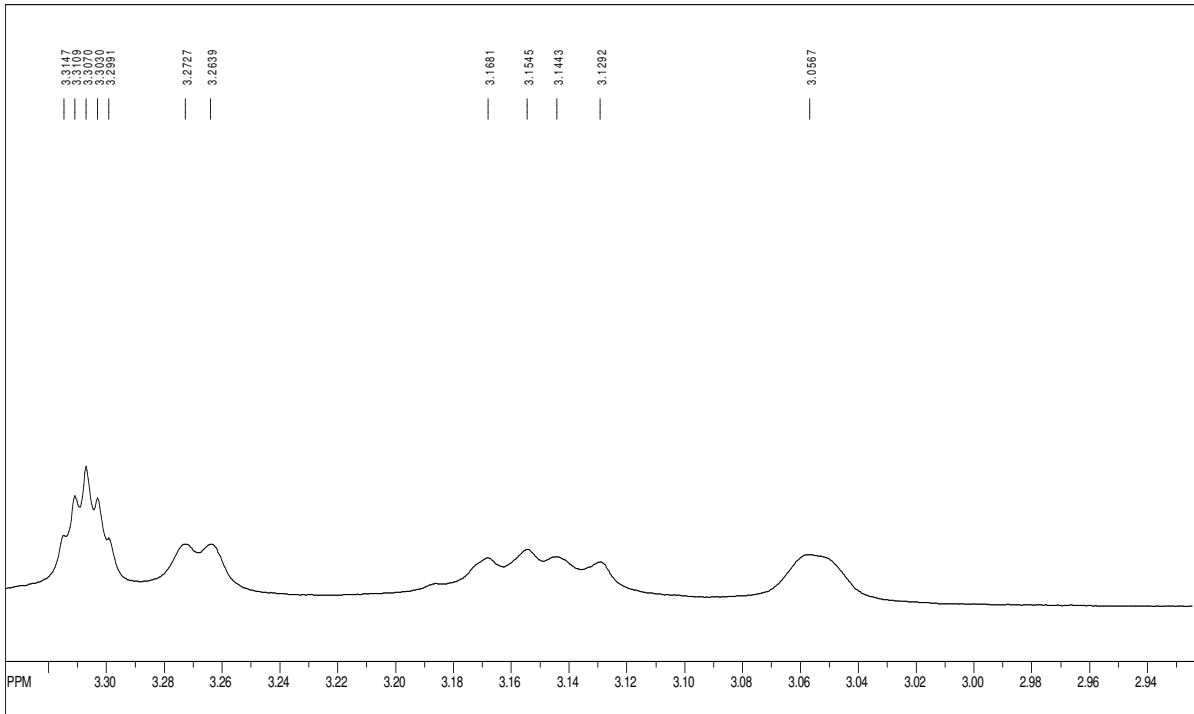


Figura 27A - Espectro de RMN ^1H (400 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) da substância SgFC-3.

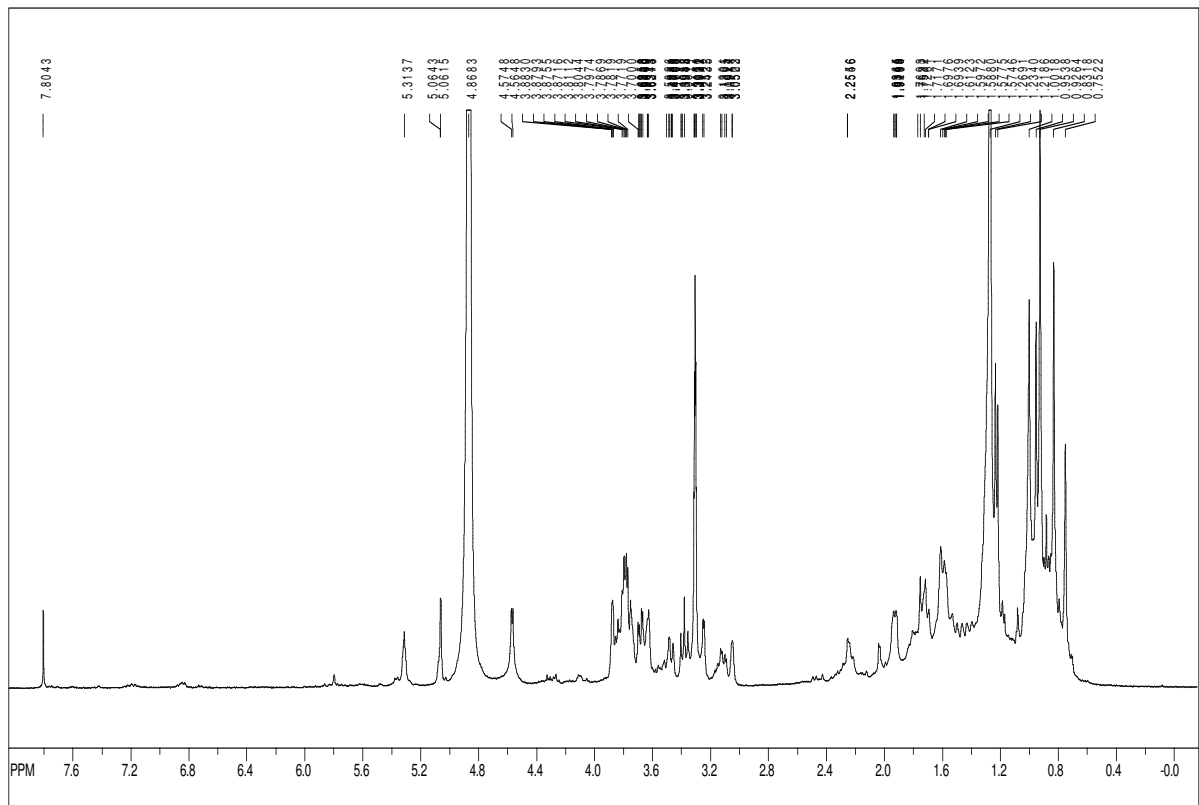


Figura 27B - Espectro de RMN ^1H (400 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) ampliado (δ 3,02-3,35) da substância SgFC-3.

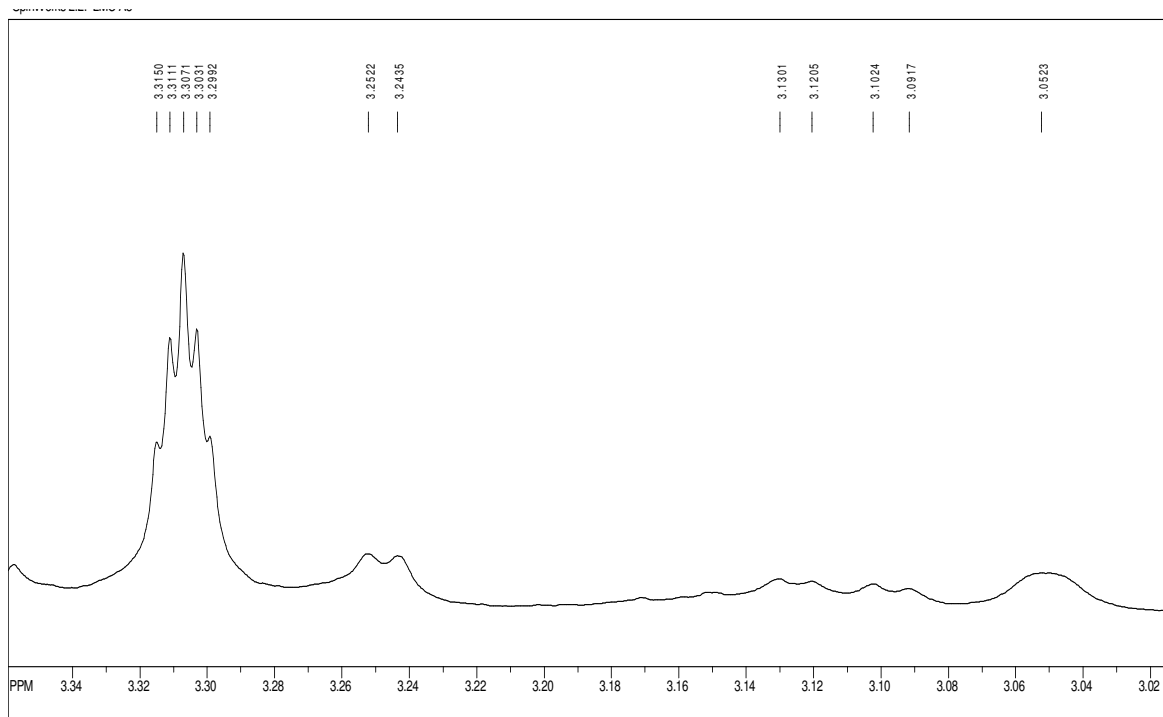


Figura 27C - Espectro de RMN ^1H (400 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) ampliado (δ 3,38-3,90) da substância SgFC-3.

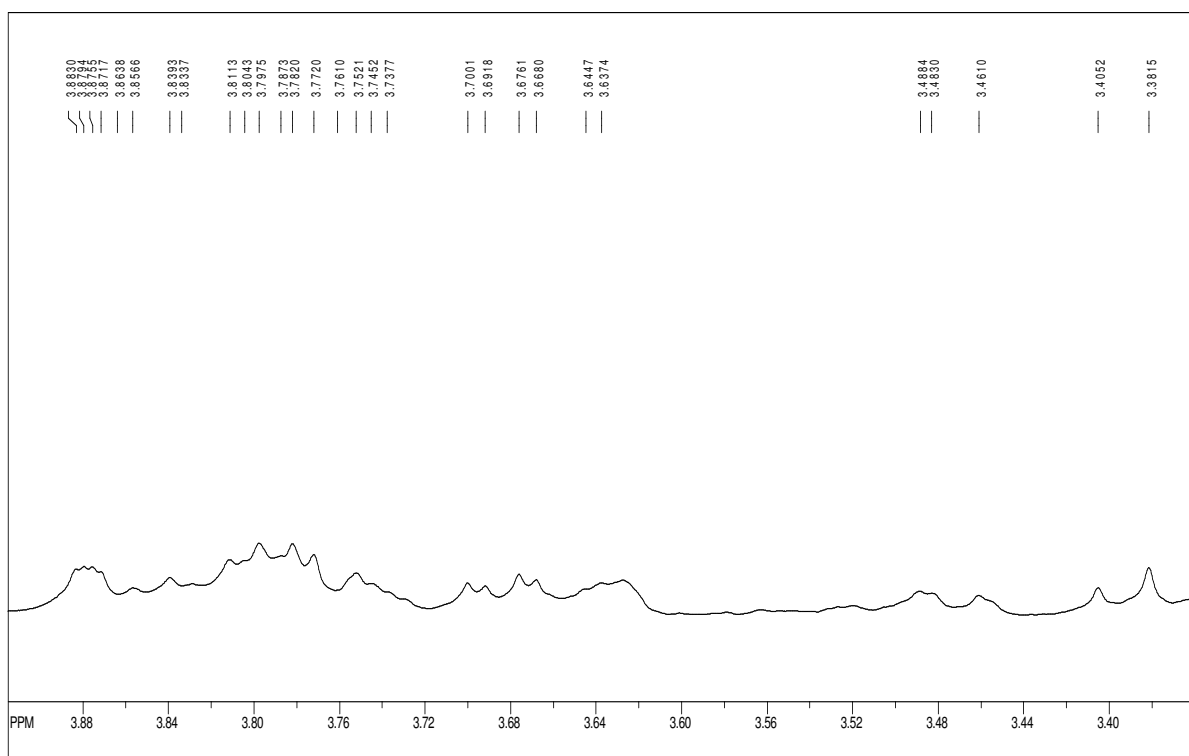


Figura 28 - Espectro de RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃/CD₃OD) da substância SgFC-1.

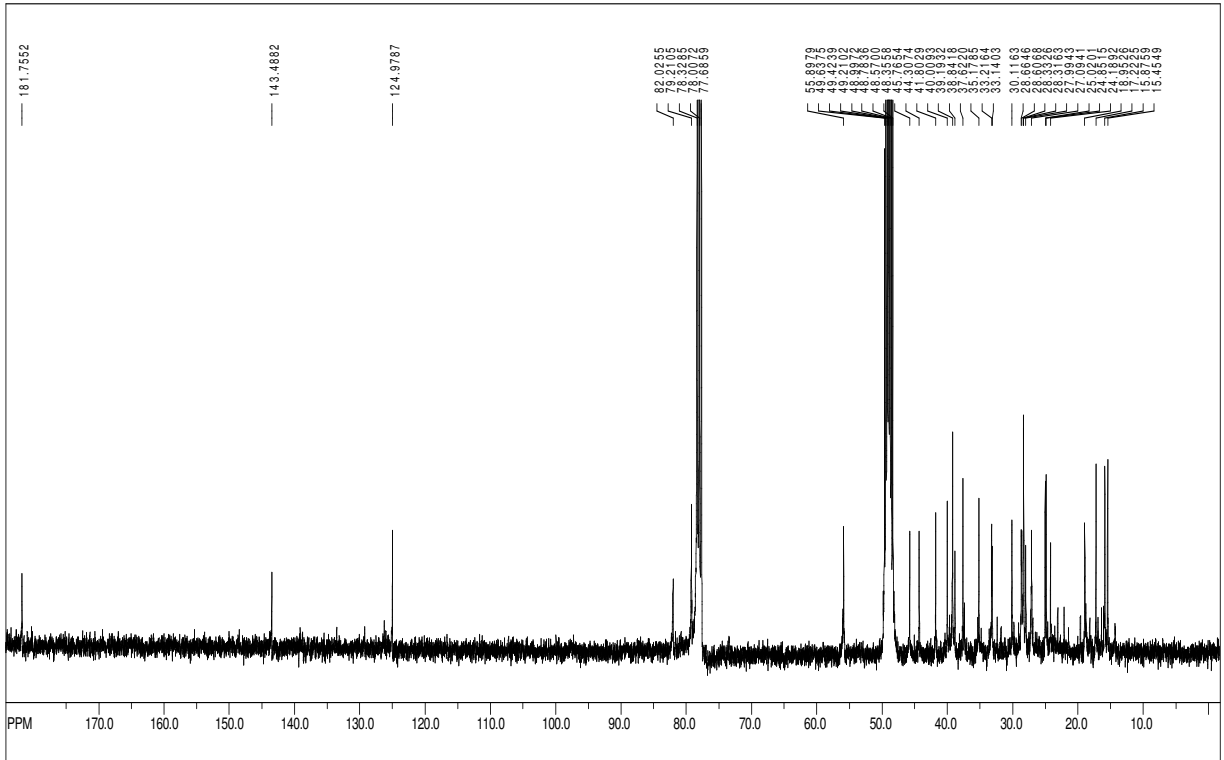


Figura 30 - Espectro de RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃/CD₃OD) da substância SgFC-3.

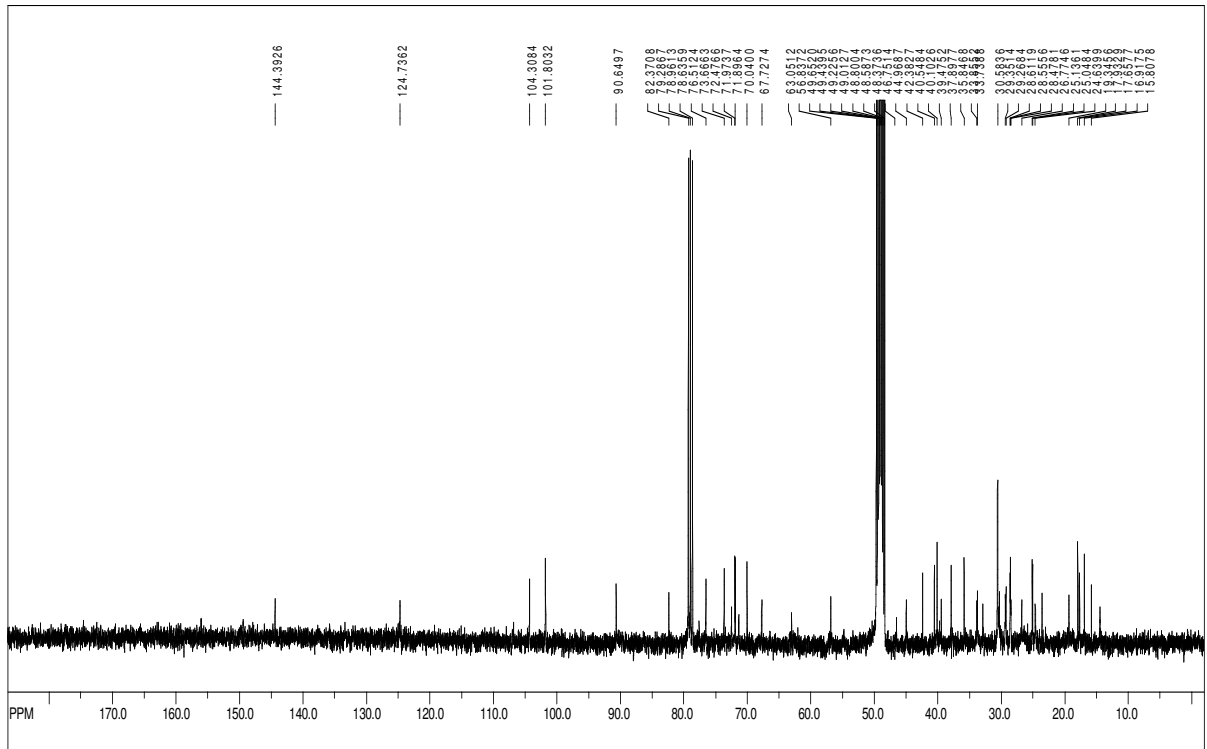


Figura 32 - Espectro HSQC (^1H : 400; ^{13}C :100 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) da substância SgFC-1.

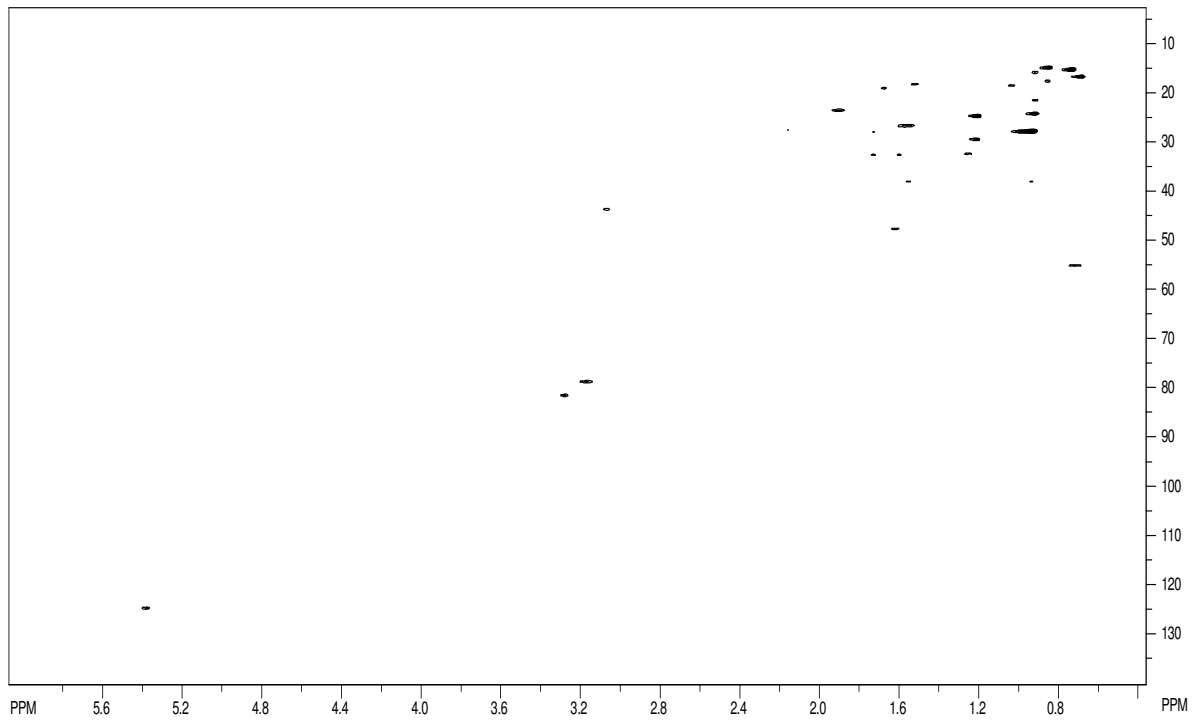


Figura 33 - Espectro HSQC (^1H : 400; ^{13}C : 100 MHz, $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$) da substância SgFC-3.

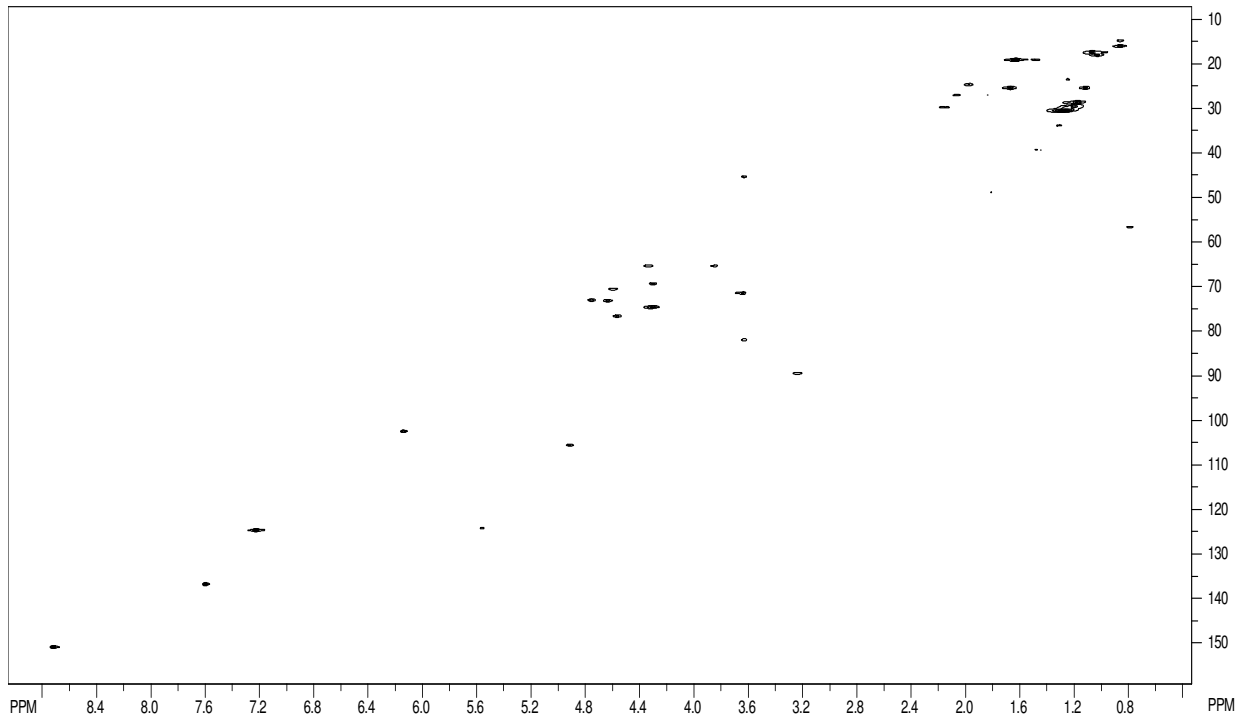


Figura 34 - Espectro HMBC (^1H : 400; ^{13}C :100 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) da substância SgFC-1.

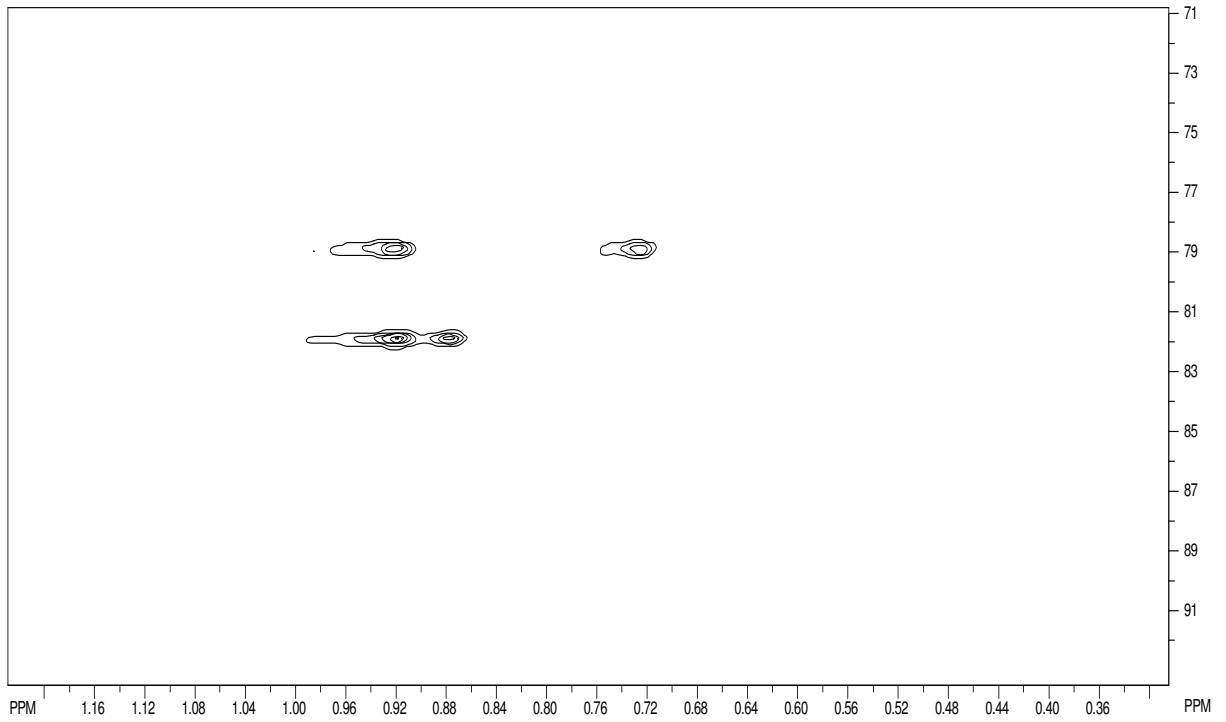


Figura 35 - Espectro HMBC (^1H : 400; ^{13}C : 100 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) da substância SgFC-3.

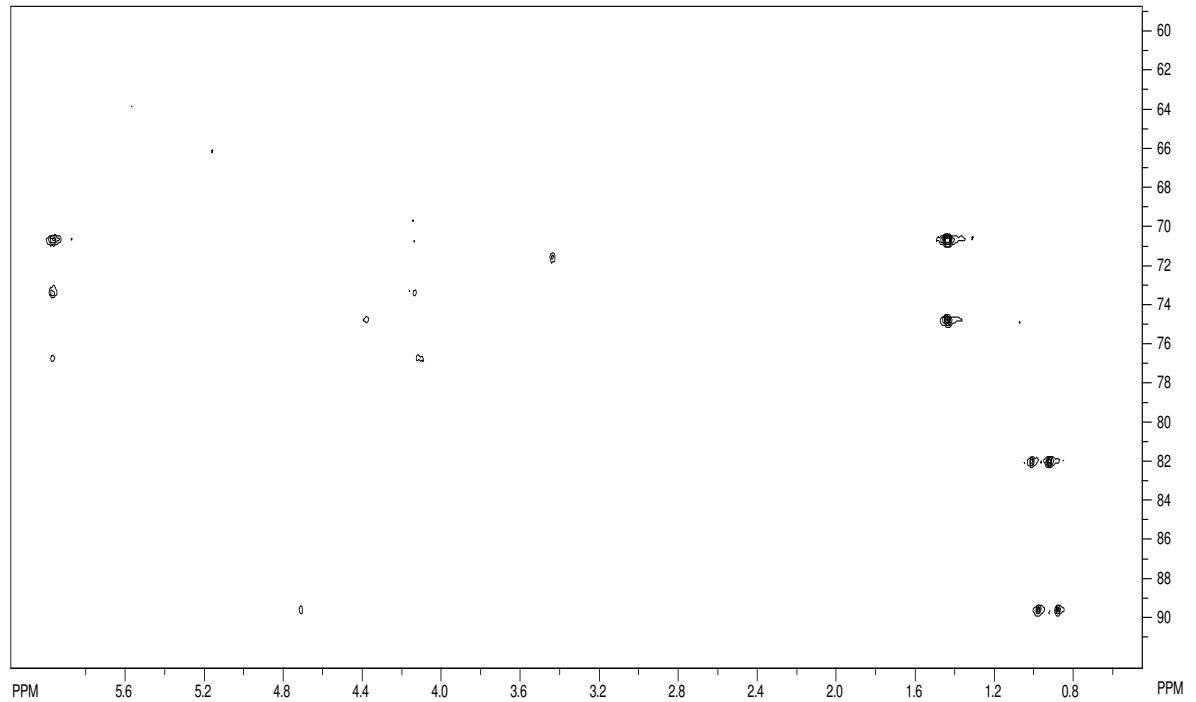
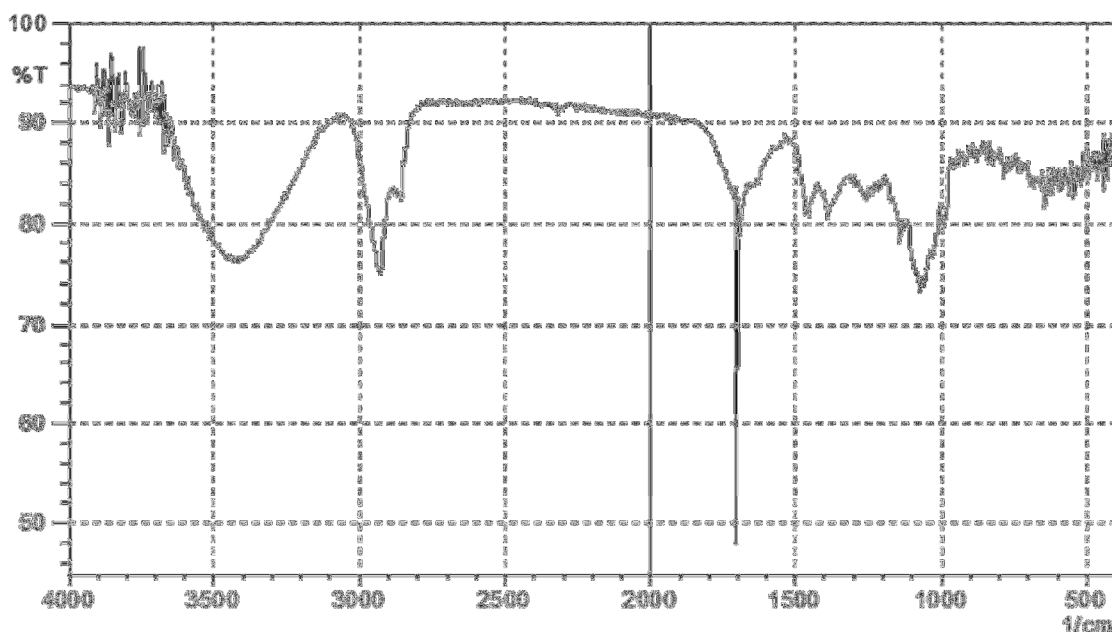


Figura 36 - Espectro na região de infravermelho (KBr) da substância SgFC-3.



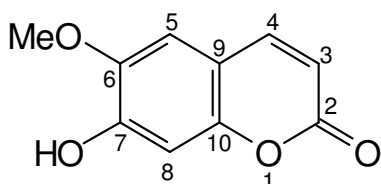
5.3.4 Identificação Estrutural da Substância Codificada de SgCC-1

A substância codificada de **SgCC-1** foi identificada como sendo uma cumarina com base na análise dos dados obtidos dos espectros de RMN, bem como pela comparação com dados de modelos descritos na literatura (BAYOUMI et al., 2010).

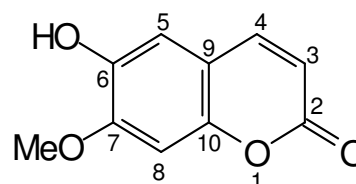
O espectro de RMN ^1H (Figura 37, p. 113) permitiu reconhecer sinais, cujos valores de deslocamentos químicos, multiplicidades e constantes de acoplamento estão condizentes com a presença de um núcleo cumarínico 6,7-dissubstituído [δ 6,21 (d, $J = 9,4$ Hz), δ 7,61 (d, $J = 9,4$ Hz), δ 6,84 (s) e δ 6,82 (s)] e de um grupo metoxila [δ 3,89 (s)].

A análise dos dados dos espectros de RMN ^{13}C (Figura 38, p. 114), DEPT (Figura 39, p. 114) e HSQC (Figura 40, p. 115) evidenciou a presença de 10 átomos de carbono, cuja natureza (5 não hidrogenados, 4 mono-hidrogenados e 1 triidrogenado) e deslocamentos químicos sugeriram a presença de um núcleo cumarínico 6,7-dissubstituído (Tabela 10, p. 113). Dentre estes carbonos foram observados valores de deslocamentos condizentes com a presença de uma carbonila δ -lactona de núcleo cumarínico [δ 162,18 (C)], de carbonos olefínicos α,β -insaturados [δ 112,47 (CH, C-3) e δ 143,85 (CH, C-4)], além de dois carbonos aromáticos que sustentam oxigênio [δ 144,84 (CH, C-6) e δ 150,47 (CH, C-7)], dois

carbonos monoidrogenados protegidos [δ 107,83 (CH, C-5) e δ 103,16 (CH, C-8)] e um sinal referente a um grupo metoxila [δ 56,22 (OCH₃)]. Estas informações permitiram propor para **SgCC-1** a estrutura da **Escopoletina (105)** ou **Isoescopoletina (106)**.



Escopoletina (105)



Isoescopoletina (106)

As correlações observadas no mapa de contorno do espectro bidimensional HMBC (Figura 41, p. 115), embora não tenha permitido a distinção entre as duas possibilidades estruturais, permitiu a atribuição inequívoca dos deslocamentos químicos dos hidrogênios e carbonos da molécula. No entanto, as proteções observadas em C-5 (**SgCC-1**: δ 107,83; **Escopoletina**: δ 109,9 e **Isoescopoletina**: δ 112,9) e em C-9 (**SgCC-1**: δ 111,15; **Escopoletina**: δ 112,6; **Isoescopoletina**: δ 113,5) sugeriram a identificação de **SgCC-1** como sendo a cumarina **Escopoletina**. A comparação dos pontos de fusão descritos na literatura para **Escopoletina** (200-202°C) e **Isoescopoletina** (138-140°C) (JEREZANO et al., 2011) com o de **SgCC-1** (197-199°C) permitiram confirmar esta proposta.

A **Escopoletina** tem apresentado diversas atividades biológica tais como: antidepressiva (CAPRA et al., 2010); anticolinesterásica (ORHAN;TOSUN; SENER, 2008), antinociceptiva (MEOTTI et al; RIBAS et al., 2008), anti-inflamatória (KIM et al., 2004), antioxidante, anti-hiperglicêmica (PANDA ; KAR, 2006), hipouricêmica (DING; DAI; WANG, 2005) e antitumoral (LIU et al., 2001).

Tabela 10 - Dados de RMN (^1H : 400; ^{13}C : 100 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$, δ , Hz) da substância codificada de SgCC-1 e comparação com os dados da literatura da *Escopoletina* e da *Isoescopoletina* (CD_3OD , BAYOUMI et al., 2010).

Posição	SgCC-1		<i>Escopoletina</i>		<i>Isoescopoletina</i>	
	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}
2	162,18		164,1		164,0	
3	112,47	6,21 (d, $J = 9,5$)	112,6	6,19 (d, $J = 9,0$)	113,5	6,22(d, $J = 9,0$)
4	143,85	7,61 (d, $J = 9,5$)	146,1	7,84 (d, $J = 9,0$)	145,9	7,79 (d, $J = 9,0$)
5	107,83	6,84 (s)	109,9	7,09 (s)	112,9	6,93 (s)
6	144,84		147,1		153,5	
7	150,47		153,0		145,3	
8	103,16	6,82 (s)	104,0	6,75 (s)	100,6	6,71 (s)
9	111,15		112,6		113,5	
10	150,00		151,4		150,9	
OMe	56,22	3,89 (s)	56,8	3,90 (s)	56,8	3,94 (s)

Figura 37- Espectro de RMN ^1H (400 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) da substância SgCC-1.

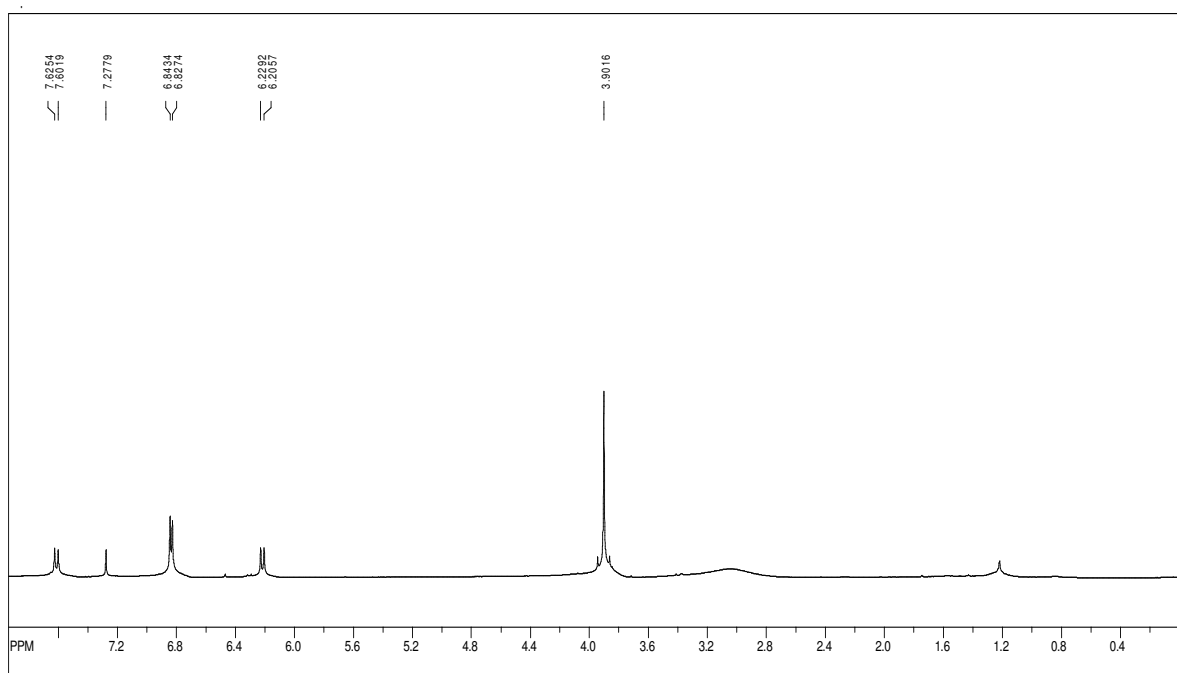


Figura 38 - Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) da substância SgCC-1.

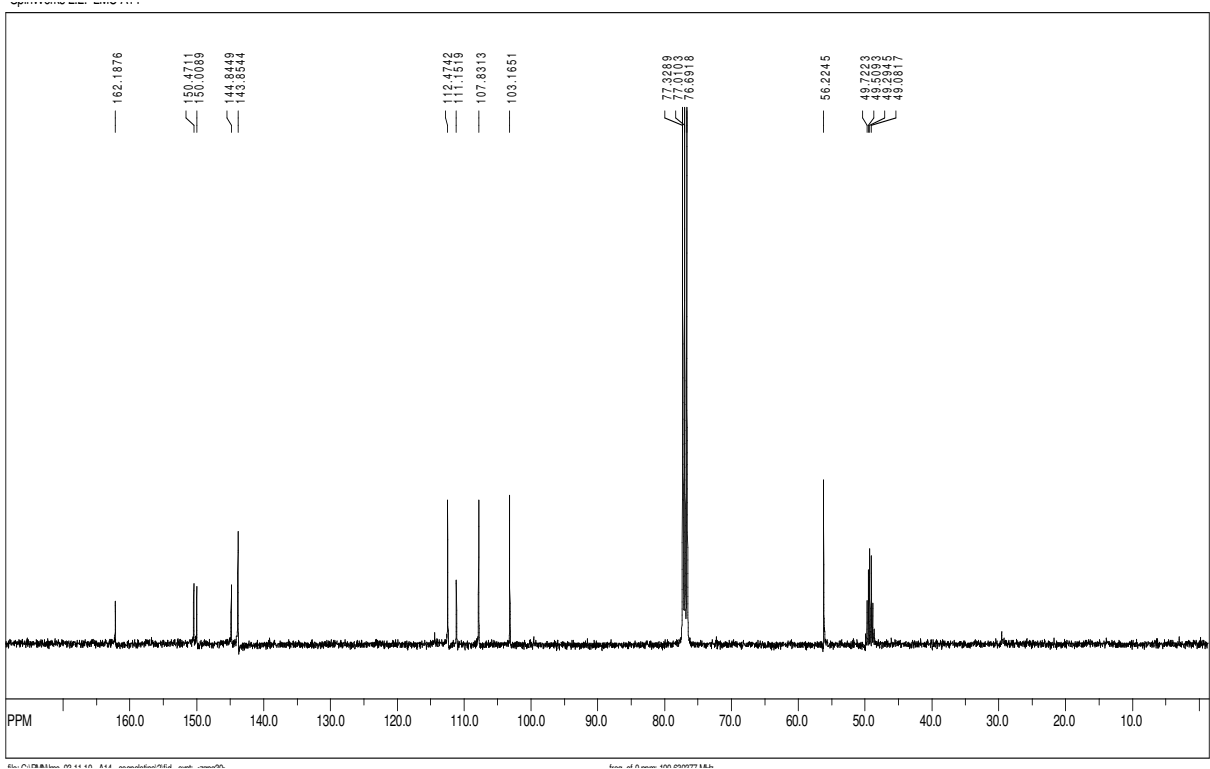


Figura 39 - Espectro de RMN ^{13}C -DEPT (100 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) da substância SgCC-1.

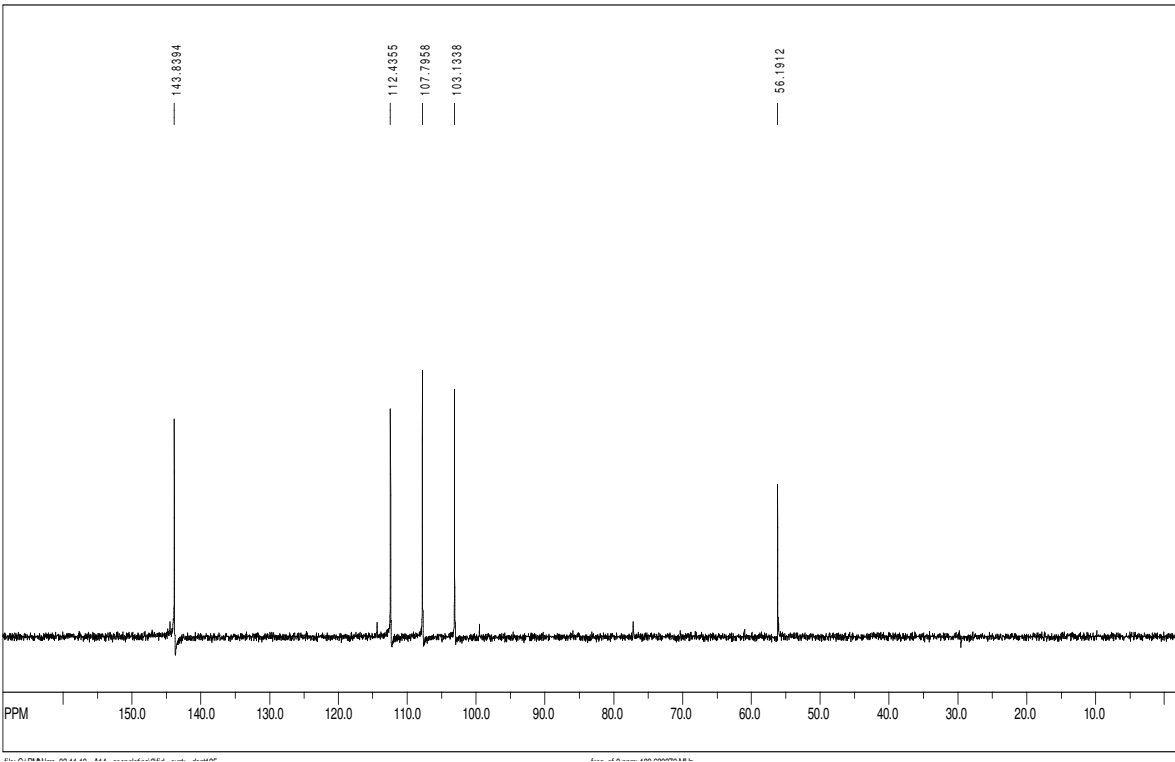


Figura 40 - Espectro de HSQC (^1H : 400; ^{13}C : 100 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) da substância SgCC-1.

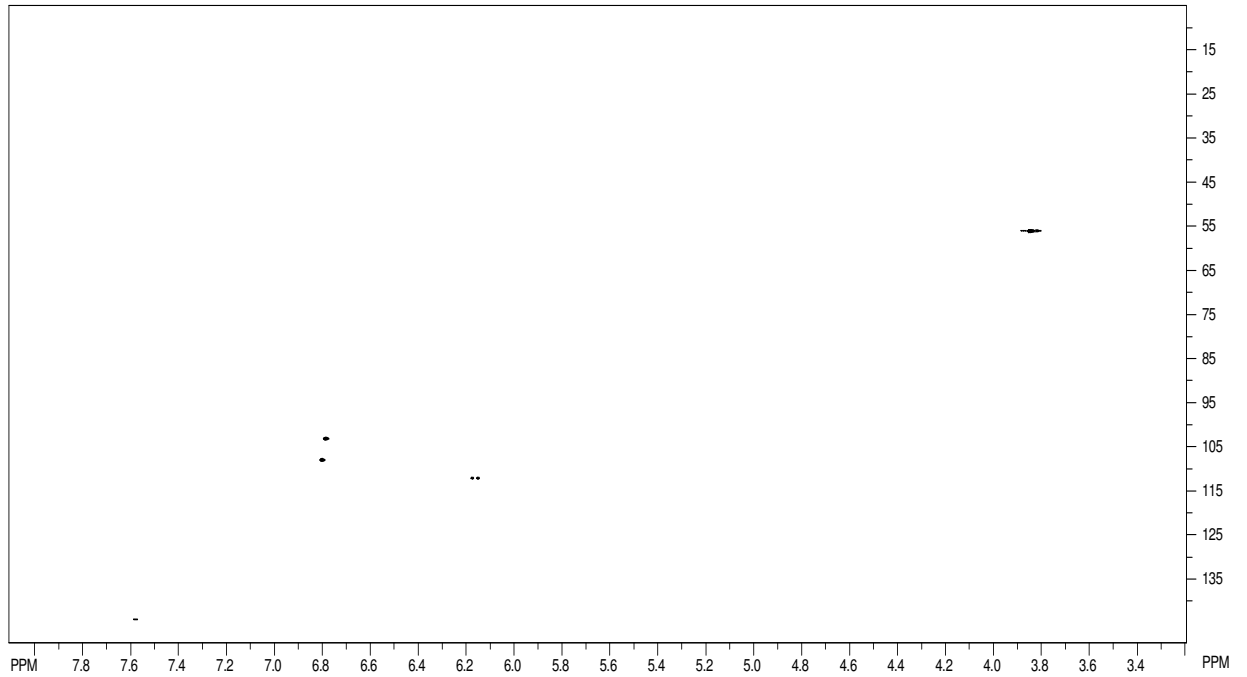
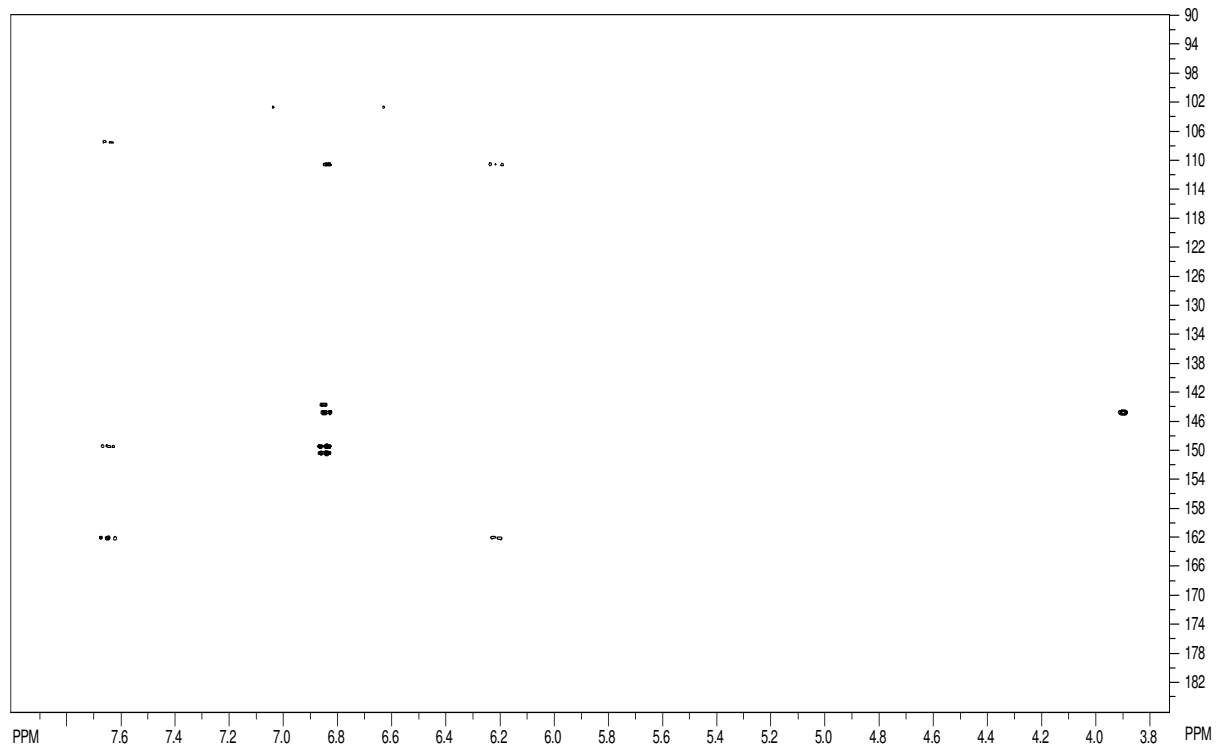


Figura 41 - Espectro de HMBC (^1H : 400; ^{13}C : 100 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) da substância SgCC-1.



5.3.5 Identificação Estrutural das Substâncias Codificadas de SgCC-2 e SgCC-3

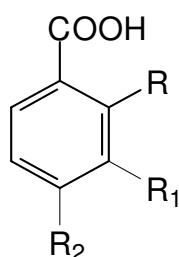
As substâncias codificadas de **SgCC-2** e **SgCC-3** foram identificadas como sendo dois compostos fenólicos, derivados do **Ácido benzoico (107)** com base na análise dos dados obtidos dos respectivos espectros de RMN, bem como pela comparação com o dados reportados na literatura (TAKAC; TOPIC, 2004; COLOMBO et al., 2010; XIANG et al., 2011).

A análise dos espectros de RMN ^1H das substâncias **SgCC-2** (Figura 42, p. 118; Tabela 11, p. 117) e **SgCC-3** (Figura 43, p. 119; Tabela 12, p. 118) demonstrou valores de deslocamentos químicos e constantes de acoplamento [**SgCC-2**: δ 7,23 (dt, $J = 8,0$ e $7,1$ Hz, H-5), δ 7,30 (dd, $J = 8,6$ e $1,7$ Hz, H-3), δ 7,80 (dt, $J = 8,6$ e $7,1$ Hz, H-4), δ 8,23 (dd, $J = 8,0$ e $1,7$ Hz, H-6) e [**SgCC-3**: δ 6,70 (d, $J = 8,7$ Hz, H-5), δ 7,42 (dd, $J = 8,7$ e $2,0$ Hz, H-6), δ 7,41 (d, $J = 2,0$ Hz, H-2)] característicos de hidrogênios aromáticos em um sistema 1,2-dissubstituído e 1,3,4-trissubstituído, respectivamente. O espectro da substância **SgCC-3** apresentou, ainda, um sinal simples em δ 3,75 sugerindo a presença de um grupo metoxila.

Os dados obtidos dos respectivos espectros de RMN ^{13}C e DEPT 135 de **SgCC-2** (Figuras 44-45, pp. 119-120; Tabela 11, p. 117) e **SgCC-3** (Figuras 46-47, pp. 120-121; Tabela 12, p. 118) revelou seis sinais com valores de deslocamento químicos característicos de carbonos aromáticos, sendo que destes quatro em **SgCC-2** e três em **SgCC-3** são hidrogenados, estando compatível com um sistema 1,2-dissubstituído e 1,3,4-trissubstituído, respectivamente. Foram observados, ainda, sinais em δ 172,21 para **SgCC-2** e para **SgCC-3** em δ 170,07 e δ 56,37 referentes a um grupo carboxila conjugada em ambas e um grupo metoxila em **SgCC-3**.

A apreciação conjunta dos dados espectrais permitiu identificar a substância **SgCC-2** como sendo o **Ácido salicílico (108)** e propor para **SgCC-3** as estruturas do **Ácido vanílico (109)** ou do **Ácido isovanílico (110)**. Estas propostas estruturais foram confirmadas pela comparação dos dados de RMN ^1H e ^{13}C obtidos com os dos compostos correspondentes descritos na literatura. Os pontos de fusão descritos na literatura para o **Ácido vanílico** (210-213°C; CURIR et al., 2003) e para o **Ácido Isovanílico** (255 °C; CROSBY, 1961) quando comparados com o da substância **SgCC-3** (209-211°C) permitiram propor a estrutura do **Ácido vanílico**.

O **Ácido salicílico** tem reconhecida atividade antinociceptiva (STEEN; REEH; KREYSEL, 1995), anti-inflamatória (VOILLEY et al., 2001), antipirética, antisséptica, antirreumática (VANE; BOTTING, 1998), antimicrobiana (KUPFERWASSER et al., 2003), além de ser utilizado no tratamento de várias doenças relacionadas com pele hiperqueratótica (LIN; NAKATSUI, 1998). O **Ácido vanílico** possui ação antinociceptiva e anti-inflamatória (LEAL et al., 2011), antimicrobiana (DELAQUIS; STANICH; TOIVONEN, 2005), antioxidante (ZHANG et al., 2009), hepatoprotetora (ITOH et al., 2010) e inibidor do efeito anticoagulante do veneno da serpente *Naja naja* (DHANANJAYA et al., 2006).



Ácido benzoico (107) R = R₁ = R₂ = H

SgCC-2 R = OH e R₁ = R₂ = H (108)

SgCC-3 R = H, R₁ = OMe e R₂ = OH (109)

Ácido isovanílico (110) R = H, R₁ = OH e R₂ = OMe

Tabela 11 - Dados de RMN (¹H: 400; ¹³C: 100 MHz, CD₃OD, δ, Hz) da substância codificada de SgFC-2 e comparação com os dados da literatura do **Ácido salicílico (DMSO-*d*₆, TAKAC; TOPIC, 2004).**

Posição	SgCC-2		Ácido salicílico	
	δ _C	δ _H	δ _C	δ _H
1	112,46		113,02	
2	161,32		161,29	
3	116,87	7,30 (dd, J = 8,6 e 1,7)	117,21	6,96 (d, J = 7,5)
4	135,33	7,80 (dt, J = 8,6 e 7,1)	135,76	7,52 (t, J = 7,7)
5	118,89	7,23 (dt, J = 8,0 e 7,1)	119,28	6,92 (t, J = 7,4)
6	130,34	8,23 (dd, J = 8,0 e 1,7)	130,40	7,82 (d, J = 7,7)
COOH	172,21		172,08	

Tabela 12 - Dados de RMN (^1H : 400; ^{13}C : 100 MHz, CD_3OD , δ , Hz) da substância SgCC-3 e comparação com os dados da literatura do *Ácido Vanílico* (CD_3OD ; COLOMBO et al., 2010) e *Ácido Isovanílico* ($\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$, XIANG et al., 2011).

Posição	SgCC-3		<i>Ácido vanílico</i>		<i>Ácido isovanílico</i>	
	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}
1	123,07		124,9		122,9	
2	113,75	7,41 (d, $J = 2,0$)	114,0	7,52 (d, $J = 2,0$)	115,5	6,92 (d, $J = 1,6$)
3	148,66		148,5		148,1	
4	152,67		152,6		152,0	
5	115,83	6,70 (d, $J = 8,7$)	115,7	6,82 (d, $J = 8,0$)	113,5	7,58 (d, $J = 8,4$)
6	125,27 (dd, $J = 8,7; 2,0$)	7,42	125,8 (dd, $J = 8,0; 2,0$)	7,54	124,8 (dd, $J = 8,4; 1,6$)	7,61
COOH	170,07		172,1		167,8	
OMe	56,37	3,75 (s)	56,4	3,84 (s)	56,3	3,93 (s)

Figura 42 - Espectro de RMN ^1H (400 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) da substância SgCC-2.

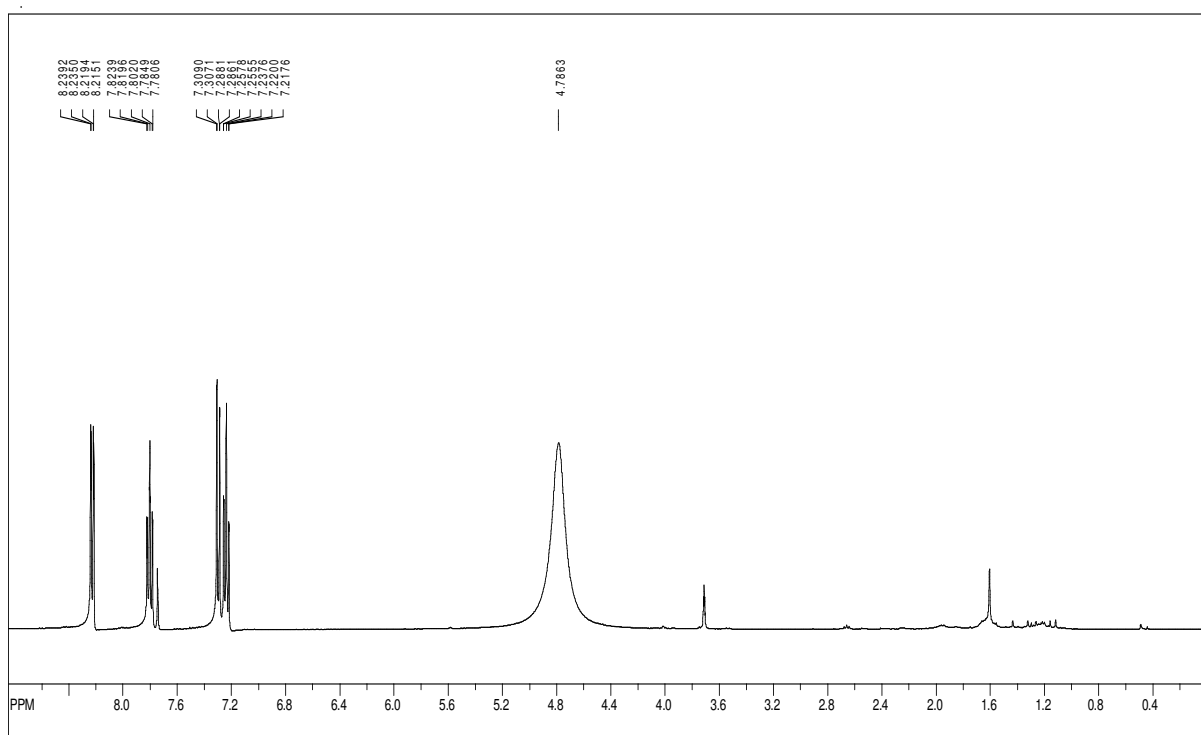


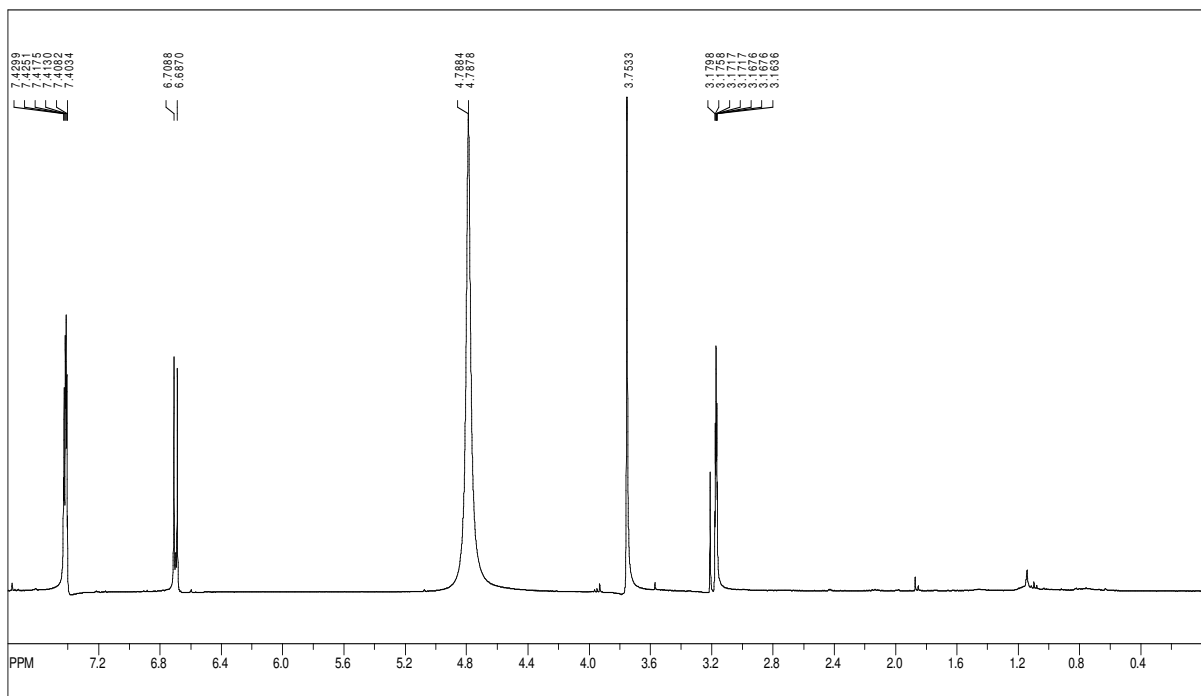
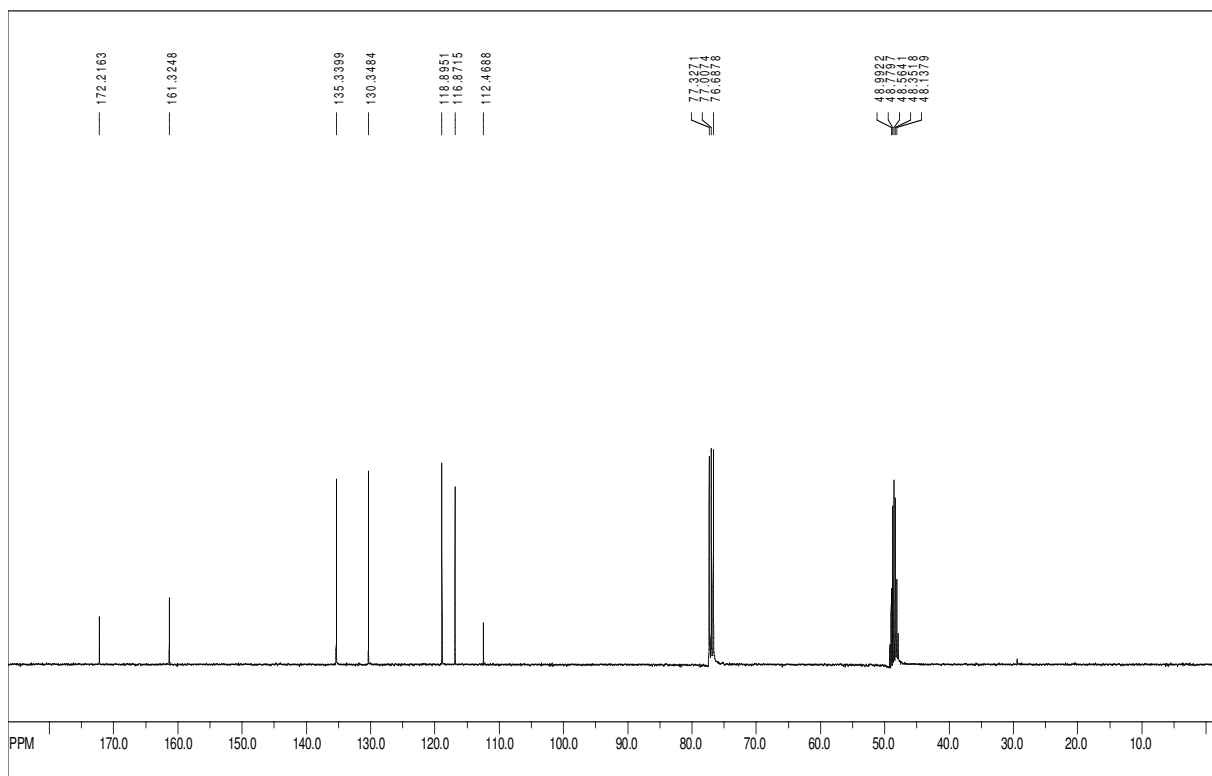
Figura 43 - Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD) da substância SgCC-3.**Figura 44 - Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) da substância SgCC-2.**

Figura 45 - Espectro de RMN ^{13}C -DEPT (100 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) da substância SgCC-2.

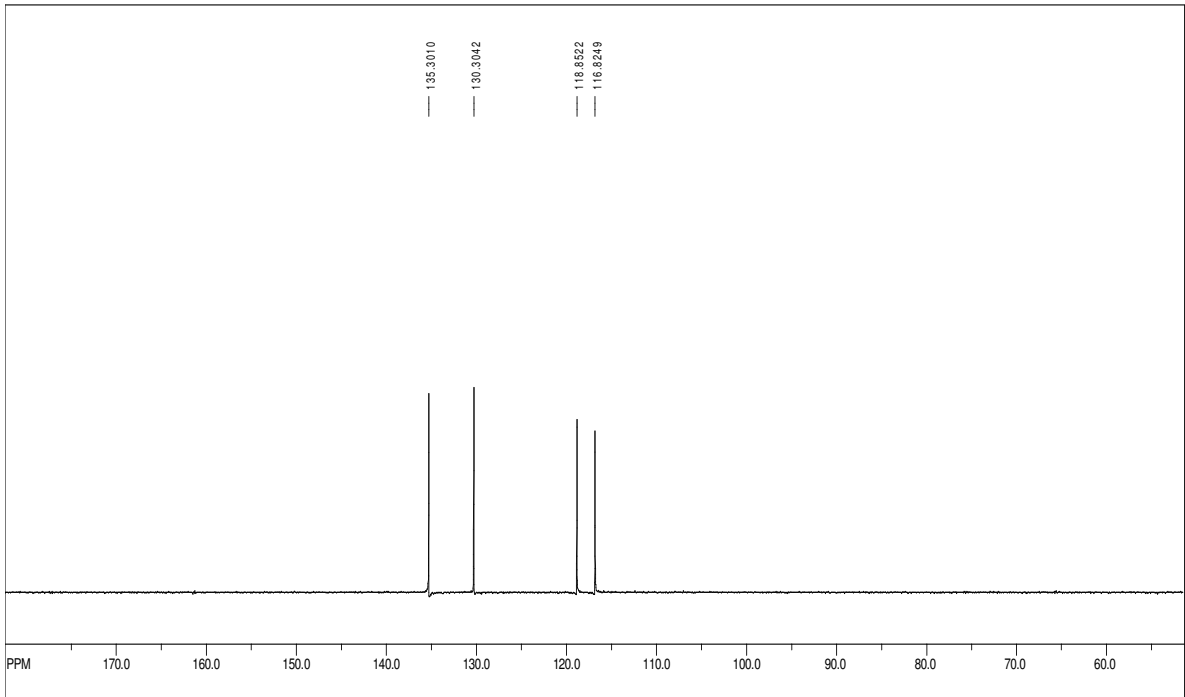


Figura 46 - Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) da substância SgCC-3.

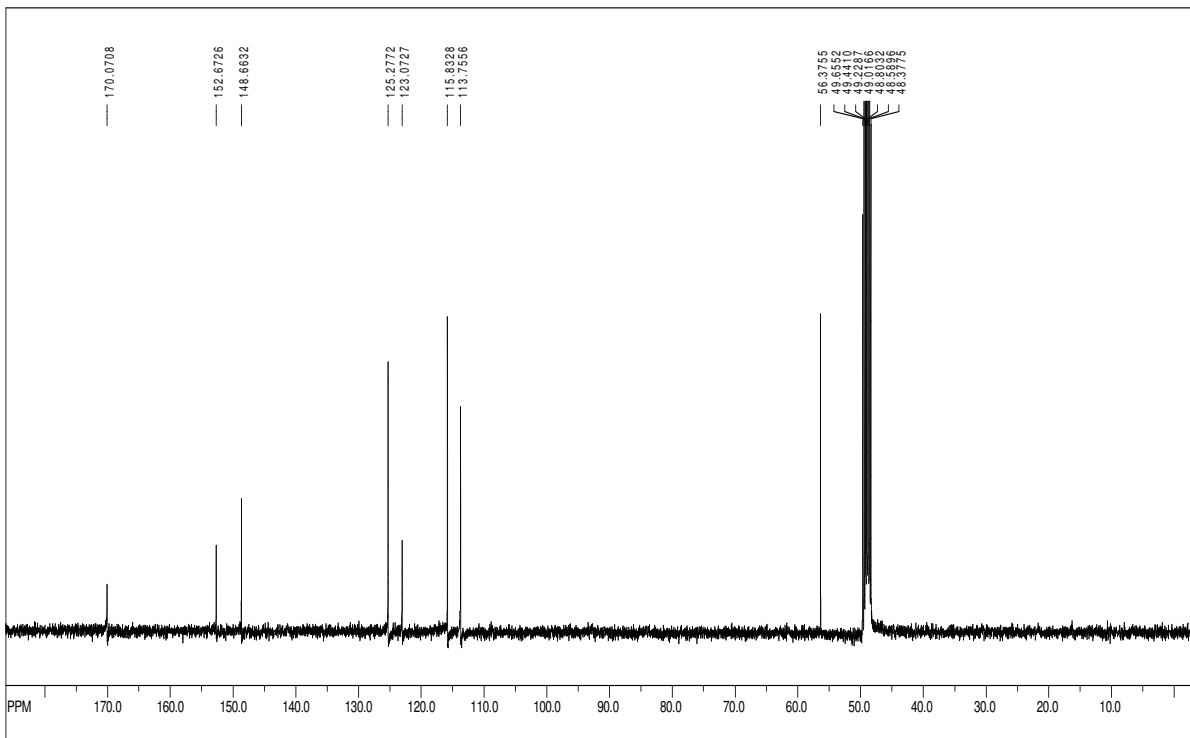
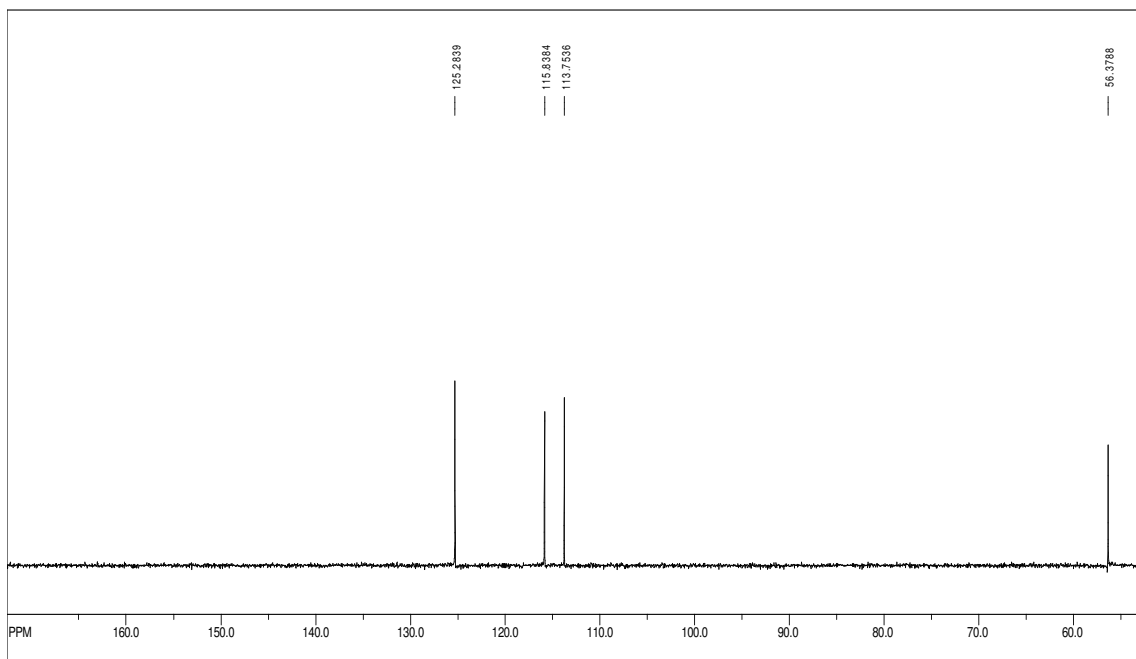


Figura 47 - Espectro de RMN ^{13}C -DEPT (100 MHz, CD_3OD) da substância SgCC-3.



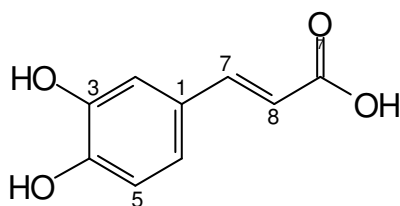
5.3.6 Identificação Estrutural da Substância Codificada de SgCC-4

A substância codificada de **SgCC-4** foi identificada como sendo um derivado do **Ácido cafeico (111)**, com base na análise dos dados obtidos dos espectros de RMN, bem como pela comparação com dados descritos na literatura (XIANG et al., 2011).

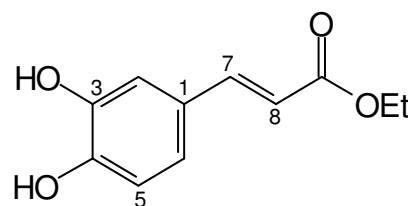
Os dados obtidos do espectro de RMN ^1H (Figura 48, p. 123; Tabela 13, p. 122) permitiu reconhecer sinais, cujos valores de deslocamentos químicos, multiplicidades e constantes de acoplamento estão condizentes com a presença de hidrogênios olefínicos (α,β -insaturados) com orientação *trans* [δ 7,44 (d, $J = 16,0$ Hz) e δ 6,16 (d, $J = 16,0$ Hz)], de um grupo etoxila [δ 4,13 (q, $J = 7,0$ Hz) e δ 1,20 (t, $J = 7,0$ Hz)] e de hidrogênios aromáticos em um sistema 1,3,4-trissubstituído [δ 6,93 (d, $J = 2,0$ Hz), δ 6,84 (dd, $J = 8,2$ e $2,0$ Hz) e δ 6,68 (d, $J = 8,2$ Hz)].

A análise dos dados dos espectros de RMN ^{13}C e DEPT [Figuras 49 (p. 123) e 50 (p. 124); Tabela 13 (p. 122)] indicou a presença de 11 átomos de carbonos, sendo que destes, quatro são não hidrogenados, cinco monoidrogenados, um diidrogenado e um triidrogenado. Dentre estes carbonos foram observados valores de deslocamentos condizentes com a presença de uma carbonila de éster α,β -insaturada [δ 169,35 (C)], de carbonos olefínicos α,β -insaturados [δ 115,21 (CH, C-8)

e δ 146,78 (CH, C-7)], além de dois carbonos aromáticos que sustentam oxigênio [δ 146,74 (C, C-3) e δ 149,52 (C, C-4)], três carbonos aromáticos monohidrogenados [δ 115,07 (CH, C-2), δ 116,47 (CH, C-5) e δ 122,90 (CH, C-6)], um carbono sp^2 não hidrogenado [δ 127,68 (C, C-1)] e dois sinais referentes a um grupo etoxila [δ 14,63 e 61,42 (OCH₂CH₃)]. Estas informações aliadas a comparação com dados descritos na literatura permitiram propor para **SgCC-4** a estrutura do **Cafeato de etila** (112).



111



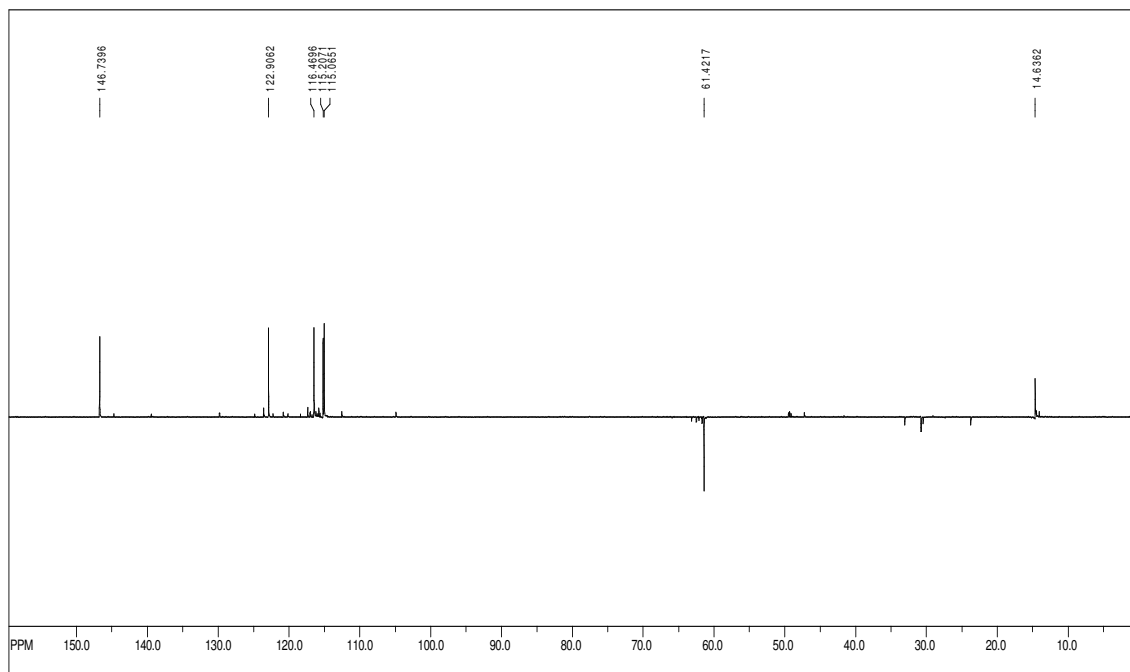
SgCC-4 (112)

O **Cafeato de etila** tem sido reportado como possuidor de atividades antioxidante e anticarcinogênica (JAIKANG et al., 2011), anti-inflamatória (CHIANG et al., 2005; CAI et al., 2010), inibidor da fibrose hepática (BOSELLI et al., 2009) e com potencial atividade antinociceptiva (CHIANG et al., 2005).

Tabela 13 - Dados de RMN (¹H: 400; ¹³C: 100 MHz, CD₃OD, δ , Hz) da substância SgCC-4 e comparação com dados do Cafeato de etila (DMSO-*d*₆; XIANG et al., 2011).

Posição	SgCC-4		Cafeato de etila	
	δ_C	δ_H	δ_C	δ_H
1	127,68		127,5	
2	115,07	6,93 (d, $J = 2,0$)	115,2	7.18 (d, $J = 1.5$)
3	146,74		145,5	
4	149,52		148,7	
5	116,47	6,68 (d, $J = 8,2$)	116,3	6,88 (d, $J = 8,4$)
6	122,90	6,84 (dd, $J = 8,2$ e $2,0$)	122,4	7.05 (dd, $J = 8,4$ e $1,5$)
7	146,78	6,16 (d, $J = 16,0$)	146,2	6,29 (d, $J = 15,6$)
8	115,21	7,44(d, $J = 16,0$)	115,6	7,55 (d, $J = 16,2$)
COO	169,35		167,4	
OCH ₂	61,42	4,13 (q, $J = 7,0$)	60,5	4,18 (q, $J = 7,2$)
CH ₃	14,63	1,20 (t, $J = 7,0$)	14,6	1,26 (t, $J = 4,8$)

Figura 50 - Espectro DEPT (100 MHz, CD₃OD) da substância SgCC-4.



5.4 Considerações Quimiotaxonômicas Sobre a Espécie *S. grisea*

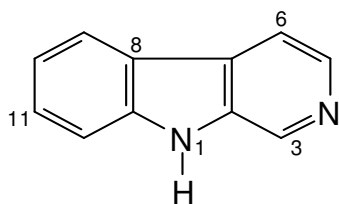
Sabicea, como já mencionado na parte inicial deste trabalho, é um gênero praticamente inexplorado do ponto de vista químico. Segundo levantamentos realizados no SciFinder e em outras bases de periódicos, todos os compostos isolados estão sendo relatados pela primeira vez no gênero. A ausência de estudos químicos neste gênero e o fato das substâncias isoladas de *S. grisea*, exceto o Ácido siaresinólico e o Gottliebsídeo, serem relativamente comuns em outras espécies de Rubiaceae e em outras famílias dificultam uma análise quimiotaxonômica dentro deste gênero. Porém, em Rubiaceae, foi observado que o ácido siaresinólico, bem como saponinas derivadas deste ácido, tem sido relatados apenas nos gêneros *Gardenia* (REDDY; AYENGAR; RANGASWAMI, 1975), *Randia* (APLIN et al., 1971; SAHPAZ; GUPTA; HOSTETTMANN, 2000) e *Catunaregam* (GAO et al., 2011a; GAO et al., 2011b), que assim como o gênero *Sabicea*, pertencem a subfamília Ixoroideae. Desta forma foi possível observar, que dentro da família Rubiaceae, até o momento, a presença destes compostos está restrita a subfamília Ixoroideae.

5.5 Identificação Estrutural das Substâncias Isoladas de *P. barbiflora*

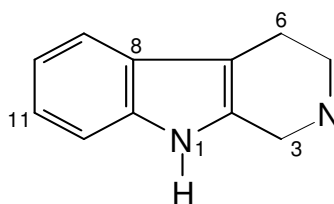
5.5.1 Identificação Estrutural das Substâncias Codificadas de PbFC-1 e PbCAc-1

As substâncias codificadas de **PbFC-1** e **PbCAc-1** tiveram inicialmente sua natureza alcaloídica sugerida pela reação positiva (coloração alaranjada) com reagente de Dragendorff. Ambas foram identificadas como sendo alcaloides com esqueleto do tipo β -carbolínico com base na análise dos dados obtidos dos respectivos espectros de RMN, bem como pela comparação com dados descritos na literatura (ARAÚJO-JÚNIOR et al., 2004; DO NASCIMENTO et al., 2008).

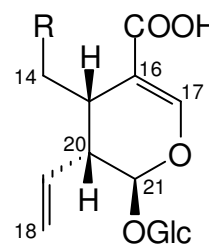
Os espectros de RMN ^1H de **PbFC-1** (Figura 51, p. 130; Tabela 14, p. 128) e de **PbCAc-1** (Figura 52, p. 131; Tabela 15, p. 129) permitiram reconhecer sinais, cujos valores de deslocamentos químicos, multiplicidades e constantes de acoplamento são característicos de hidrogênios de alcaloides do tipo β -carbolínico [**PbFC-1**: δ 7,57 (td, $J = 8,0$ e $1,2$ Hz, H-10), δ 7,86 (dd, $J = 8,1$ e $1,2$ Hz, H-12), δ 7,89 (ddd, $J = 8,1$, $7,5$ e $1,2$ Hz, H-11), δ 8,17 (d, $J = 5,3$ Hz, H-6), δ 8,43 (d, $J = 8,0$ Hz, H-9), δ 8,48 (d, $J = 5,3$ Hz, H-5)] e tetraidrocarbolínico [**PbCAc-1**: δ 3,03 (m, H-6), δ 3,24 e 3,69 (m, H-5a e H-5b), δ 4,46 (d, $J = 11,4$ Hz, H-3), δ 7,02 (t, $J = 7,8$ Hz, H-10), δ 7,12 (t, $J = 7,8$ Hz, H-11), δ 7,32 (d, $J = 8,2$ Hz, H-12), δ 7,43 (d, $J = 7,8$ Hz, H-9)].



β -carbolínico



Tetraidrocarbolínico



Secologanínico

Adicionalmente, foi observado no espectro de **PbFC-1** um sinal simples em δ 3,15, sugerindo a presença de um grupo metila ligado a carbono e não a nitrogênio ($\sim 4,5$ ppm) (CARPRASSE; COUNE; ANGENOT, 1983) e no espectro de **PbCAc-1** vários outros sinais para uma unidade β -D-glicopiranosídica [δ 4,79 (d, $J = 8,1$ Hz, H-1' anomérico), 3,24 (m, H-2'), 3,43 (t, $J = 9,0$ Hz, H-3'), 3,24 (m, H-4' e H-5'), 3,69 (m, H-6'a) e 4,02 (dl, $J = 10,6$ Hz, H-6'b)], uma ligação dupla do tipo vinil terminal [δ 5,12

(d, $J = 10,6$ Hz, H-18a), δ 5,19 (d, $J = 17,7$ Hz, H-18b) e δ 5,76 (m, H-19)] e outra trissubstituída [δ 7,58 (sl)], um hidrogênio hemiacetalico [δ 5,82 (d, $J = 9,4$ Hz, H-21)], dois hidrogênios metilênicos [δ 2,10 e 2,35 (m, H-14a e H-14b)] e dois metínicos [δ 2,93 (m, H-15) e δ 2,55 (m, H-20)], cujos valores de deslocamentos químicos estão condizentes com a presença de um iridóide do tipo secologanínica (Tabela 15, p. 130).

A análise conjunta dos dados obtidos dos espectros de RMN ^{13}C e DEPT 135 de **PbFC-1** (Figuras 53-54, p. 132; Tabela 14, p. 128) permitiu reconhecer sinais para um total de 12 átomos de carbonos (6 não hidrogenados, 5 monoidrogenados e 1 triidrogenado), cujos valores de deslocamento químicos estão coerentes com um núcleo β -carbolínico e de um grupo metila ligado a carbono (δ 19,31) e não a nitrogênio ($\sim 45,0$ ppm) (CARPRASSE; COUNE; ANGENOT, 1983).

As correlações referentes às interações heteronucleares entre átomos de carbonos e hidrogênios, observadas no mapa de contorno dos espectros bidimensionais HSQC (Figura 55, p. 133) e HMBC (Figura 56, p. 133), além de permitir a atribuição inequívoca dos deslocamentos químicos dos hidrogênios e carbonos da molécula, permitiram também inferir o grupo metila em C-3 do núcleo β -carbolínico, especialmente pelas correlações a duas e três ligações entre os hidrogênios deste grupo (δ 3,15) com C-3 (δ 142,00) e C-2 (δ 135,31).

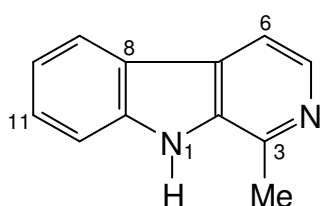
A análise conjunta dos dados de RMN obtidos e comparação com dados descritos na literatura para o **Harmana** (113) (ARAÚJO-JÚNIOR et al., 2004) permitiram a identificação da substância **PbFC-1** com este alcaloide.

Os dados obtidos dos espectros de RMN ^{13}C e DEPT 135 de **PbCAc-1** (Figuras 57-58, p. 134; Tabela 15, p. 129) permitiu reconhecer sinais cujos valores de deslocamentos químicos e padrão de hidrogenação dos mesmos estão coerentes com a presença de um núcleo tetraidrocarbolínico. Além destes, foram observados sinais cujos valores de deslocamentos estão condizentes com a presença de um grupo carboxila [δ 177,53 (C)], uma ligação dupla do tipo vinil terminal [δ 119,08 (CH_2 , C-18) e δ 136,04 (CH, C-19)] e outra trissubstituída conjugada [δ 112,87 (C, C-16) e δ 154,23 (CH, C-17)], cujo carbono hidrogenado sustenta oxigênio, além de sinais para uma unidade β -D-glicopiranosídica [δ 100,26 (CH, C-1'), 74,81 (CH, C-2'), 78,10 (CH, C-3'), 71,90 (CH, C-4'), 78,71 (CH, C-5'), 63,19 (CH_2 , C-6')], um carbono metínico dioxigenado [δ 96,72 (CH, C-21)], além de um carbono metilênico

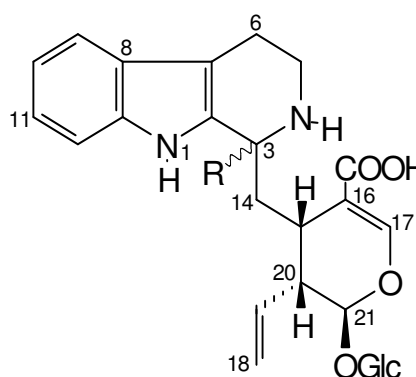
[δ 35,18 (CH₂, C-14)], dois carbonos metínicos [δ 33,73 (CH, C-15) e δ 45,68 (CH, C-20)] compatíveis com a presença de um núcleo secologanínico.

As correlações correspondentes às interações heteronucleares de átomos de carbonos e hidrogênios, observadas no mapa de contorno do espectro bidimensional HSQC (Figura 59, p. 135) corroboraram com as atribuições dos deslocamentos químicos de todos os hidrogênios e carbonos da molécula.

A análise conjunta dos dados espectrais discutidos e comparação com dados dos alcaloides **Ácidos Estrictosidínico (114)** e **3-epi-Estrictosidínico (115)** descritos na literatura (DO NASCIMENTO et al., 2006; 2008) permitiram identificar **PbCac-1** como sendo o **Ácido Estrictosidínico (114)**, especialmente pelas diferenças de deslocamentos químicos do C-3 (**PbCac-1**: δ 52,41; **Ácido Estrictosidínico**: δ 52,3 e **Ácido 3-epi-Estrictosidínico**: δ 59,5), C-5 (**PbCac-1**: δ 43,20; **Ácido Estrictosidínico**: δ 43,0 e **Ácido 3-epi-Estrictosidínico**: δ 51,0) e C-14 (**PbCac-1**: δ 35,18; **Ácido Estrictosidínico**: δ 35,1 e **Ácido 3-epi-Estrictosidínico**: δ 33,0).



PbFC-1 (113)



PbCac-1 R = α -H (114)

115 R = β -H

Alcalóides β -carbolínicos compreendem uma classe de compostos de grande interesse em diferentes segmentos da Farmacologia, pelo fato de serem apontados como os componentes ativos de plantas alucinógenas empregadas em diversas culturas da Amazônia. Este fato levou à intensivas investigações psicofarmacológicas que permitiram constatar que vários deles possuem facilidade de se ligar a uma gama de receptores que atuam no sistema nervoso central (PICADA et al., 1997; PFAU; SKOG, 2004).

O alcaloide **Harmana**, por exemplo, tem sido reportado como possuidor de atividade antidepressiva (FARZIN; MANSOURI, 2006), leishmanicida (DI GIORGIO et al., 2004), anti-HIV (ISHIDA et al., 2001), antimicrobiana (REZA; ABBAS, 2007), anticonvulsivante e convulsivante a depender da dose (ARICIOGLU et al., 2003), antimalárica (ANCOLIO et al., 2002), antioxidante (HERRAIZ; GUILLEN; ARAN, 2008), vasorrelaxante (SHI et al., 2000), antinociceptiva em modelo neuropático (ARICIOGLU; KORCEGEZ; OZYALCIN, 2003), bem como inibidor da enzima monoamina oxidase (HERRAIZ; CHAPARRO, 2006). No entanto, diversos estudos têm demonstrado que em altas doses este alcaloide tem apresentado potencial efeito genotóxico, neurotóxico e carcinogênico (MEESTER, 1995; LOUIS et al., 2008; EL-GENDY; EI-KADY, 2010; LOUIS et al., 2010). Por sua vez, o **Ácido Estrictosidínico** possui efeito analgésico, antipirético (REANMONGKOL et al., 2000), antiquimiotático (SIMÕES-PIRES et al., 2006) e ação sobre os níveis de monoaminas (FARIAS et al., 2010).

Tabela 14 - Dados de RMN (¹H: 400; ¹³C: 100 MHz, CDCl₃/CD₃OD, δ, Hz) da substância PbFC-1 e comparação com os dados da literatura da *Harmana* (CDCl₃, ARAÚJO-JÚNIOR et al., 2004).

Posição	PbFC-1		<i>Harmana</i>	
	δ _C	δ _H	δ _C	δ _H
2	135,31		134,79	
3	142,00		141,84	
5	136,64	8,48 (d, <i>J</i> = 5,3)	138,49	8,36 (d, <i>J</i> = 5,3)
6	113,41	8,17 (d, <i>J</i> = 5,3)	113,15	7,84 (d, <i>J</i> = 5,3)
7	128,93		128,67	
8	121,68		122,20	
9	121,98	8,43 (d, <i>J</i> = 8,0)	122,05	8,13 (d, <i>J</i> = 7,3)
10	120,01	7,57 (td, <i>J</i> = 8,0 e 1,2)	120,39	7,31 (m)
11	128,68	7,89 (ddd, <i>J</i> = 8,1, 7,5 e 1,2)	128,54	7,56 (m)
12	112,22	7,86 (dd, <i>J</i> = 8,1 e 1,2)	111,85	7,55 (m)
13	141,51		140,45	
Me	19,31	3,15 (s)	20,31	2,83 (s)

Tabela 15 - Dados de RMN (^1H : 400; ^{13}C : 100 MHz, CD_3OD , δ , Hz) da substância PbCAc-1 e comparação com dados dos *Ácidos Estrictosidínico* (CD_3OD , DO NASCIMENTO et al., 2008). e *epi-Estrictosidínico* (CD_3OD , DO NASCIMENTO et al., 2006).

Posição	PbCAc-1		<i>Ácido Estrictosidínico</i>		<i>Ácido epi-Estrictosidínico</i>
	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
2	130,53		130,5		129,5
3	52,41	4,46 (d, $J = 11,4$)	52,3	4,43 (d, $J = 9,9$)	59,5
5	43,20	3,24 e 3,69 (m)	43,0	3,20 e 3,70 (m)	51,0
6	19,62	3,03 (m)	19,6	3,02 (m)	17,3
7	107,32		107,3		106,0
8	127,53		127,5		127,5
9	119,14	7,43 (d, $J = 7,8$)	119,1	7,44 (d, $J = 7,5$)	119,0
10	120,63	7,02 (t, $J = 7,8$)	120,5	7,03 (dt, $J = 7,5; 1,2$)	120,6
11	123,45	7,12 (t, $J = 7,8$)	123,4	7,12 (ddd, $J = 8,1; 7,5; 1,2$)	123,3
12	112,44	7,32 (d, $J = 8,2$)	112,2	7,30 (d, $J = 8,1$)	112,3
13	138,26		138,2		138,3
14	35,18	2,10 e 2,35 (m)	35,1	2,11 e 2,37 (m)	33,0
15	33,73	2,93 (m)	34,0	3,00 (m)	33,6
16	112,87		113,5		114,5
17	154,23	7,58 (sl)	153,4	7,56 (sl)	152,4
18	119,08	5,12 (d, $J = 10,6$) 5,19 (d, $J = 17,7$)	118,9	5,20 (d, $J = 10,8$) 5,31 (d, $J = 17,4$)	119,0
19	136,04	5,76 (m)	136,3	5,86 (m)	136,5
20	45,68	2,55 (m)	45,7	2,70 (m)	45,8
21	96,72	5,82 (d, $J = 9,4$)	96,6	5,82 (d, $J = 9,3$)	96,8
22	177,53		175,9		175,0
1'	100,26	4,79 (d, $J = 8,1$)	100,4	4,82 (d, $J = 8,1$)	100,3
2'	74,81	3,24 (m)	74,8	3,22 (dd, $J = 9,3; 8,1$)	74,7
3'	78,10	3,43 (t, $J = 9,0$)	78,0	3,42 (dd, $J = 9,3; 9,0$)	77,9
4'	71,90	3,24 (m)	71,8	3,24 (dd, $J = 9,1; 9,0$)	71,8
5'	78,71	3,24 (m)	78,8	3,38 (dd, $J = 11,4; 9,0$)	71,8
6'	63,19	3,69 (m) e 4,02 (dl, $J = 10,6$)	63,1	3,66 (m) e 4,01 (dd, $J = 11,4$ e 1,5)	63,1

Figura 51A - Espectro de RMN ^1H (400 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) da substância PbFC-1.

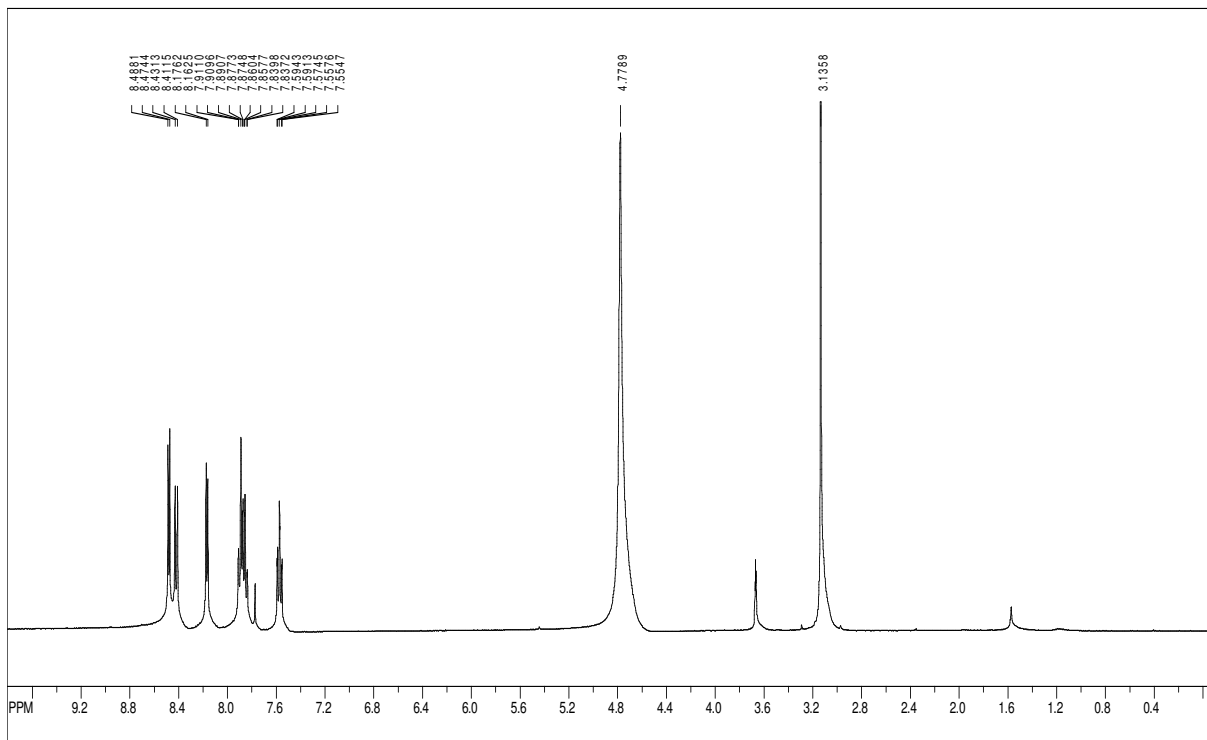


Figura 51B - Espectro de RMN ^1H (400 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) ampliado (δ 7,50-8,60) da substância PbFC-1.

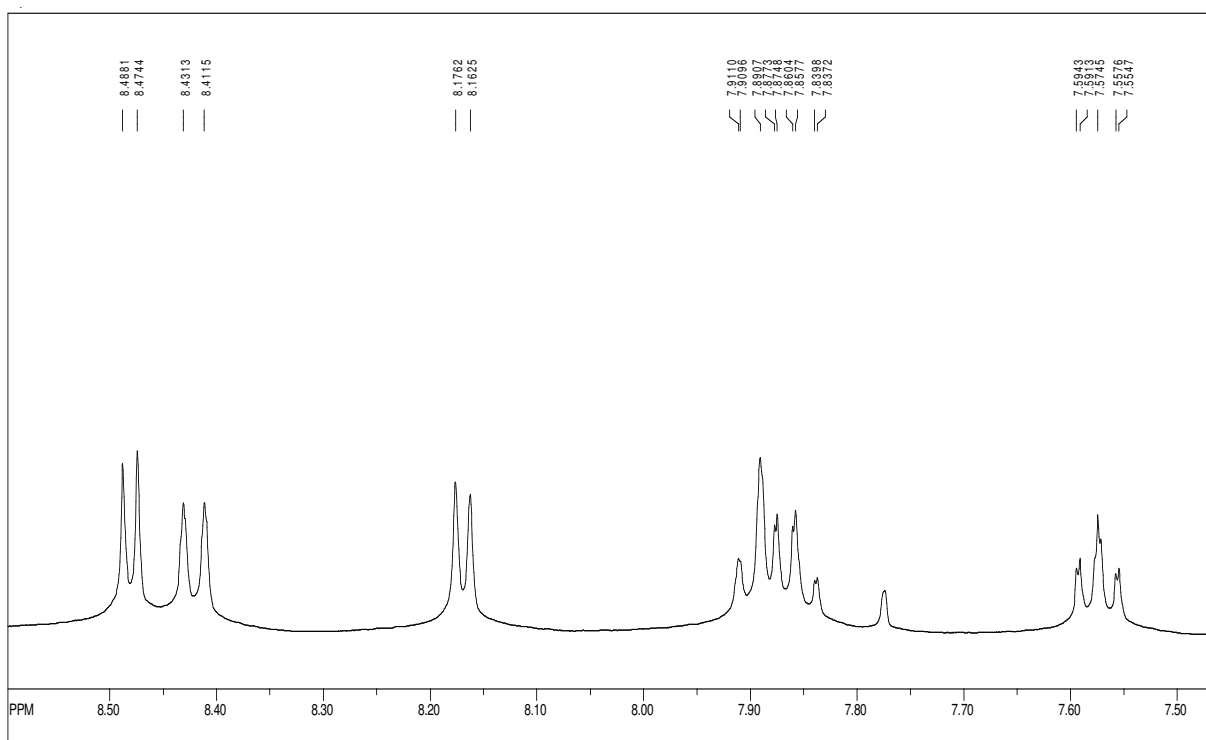


Figura 55 - Espectro de HSQC (^1H : 400; ^{13}C : 100 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) da substância PbFC-1.

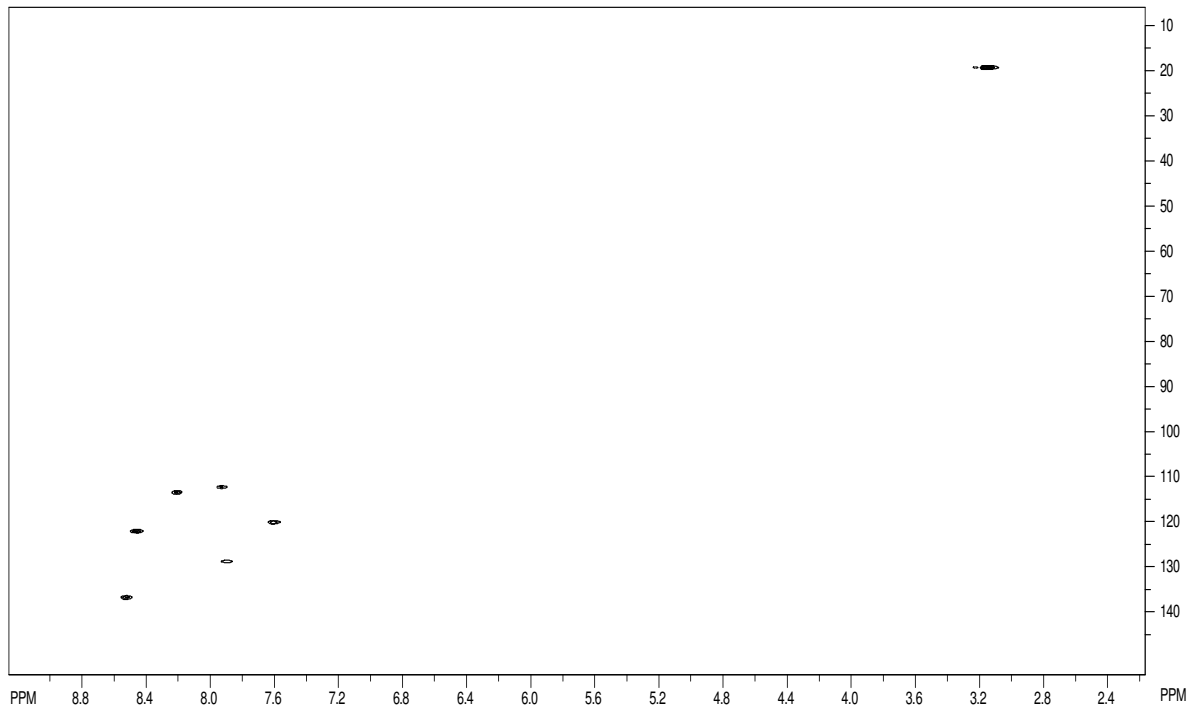


Figura 56 - Espectro HMBC (^1H : 400; ^{13}C : 100 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) da substância PbFC-1.

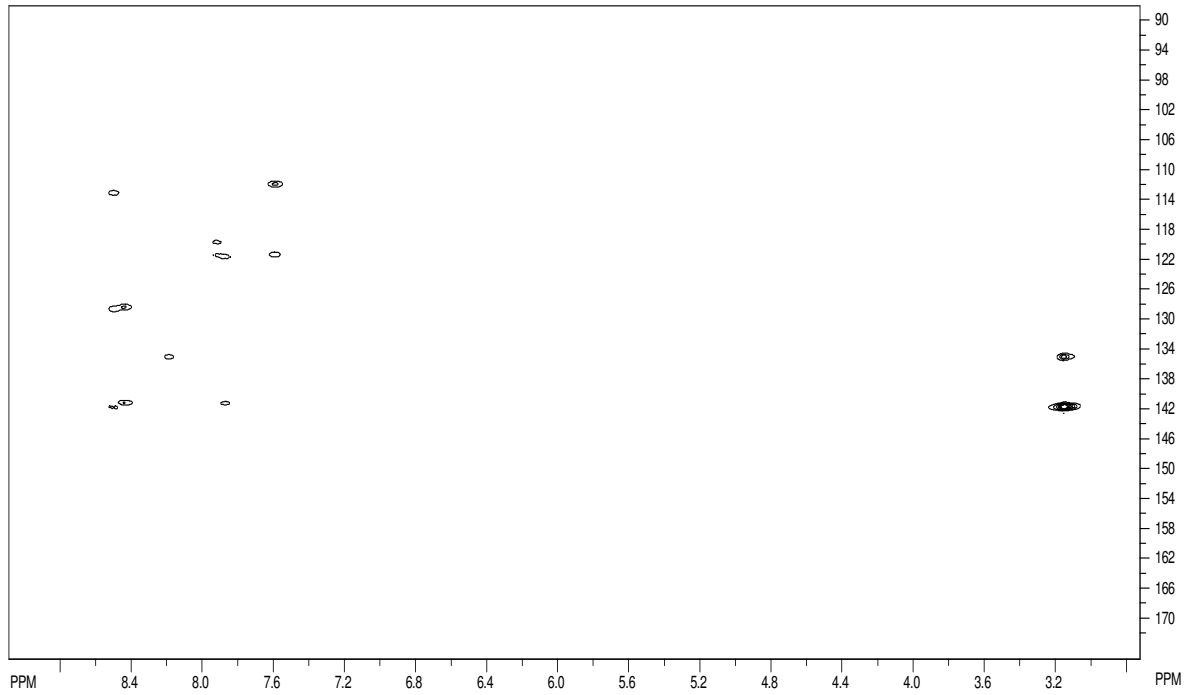


Figura 57 - Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) da substância PbCAc-1.

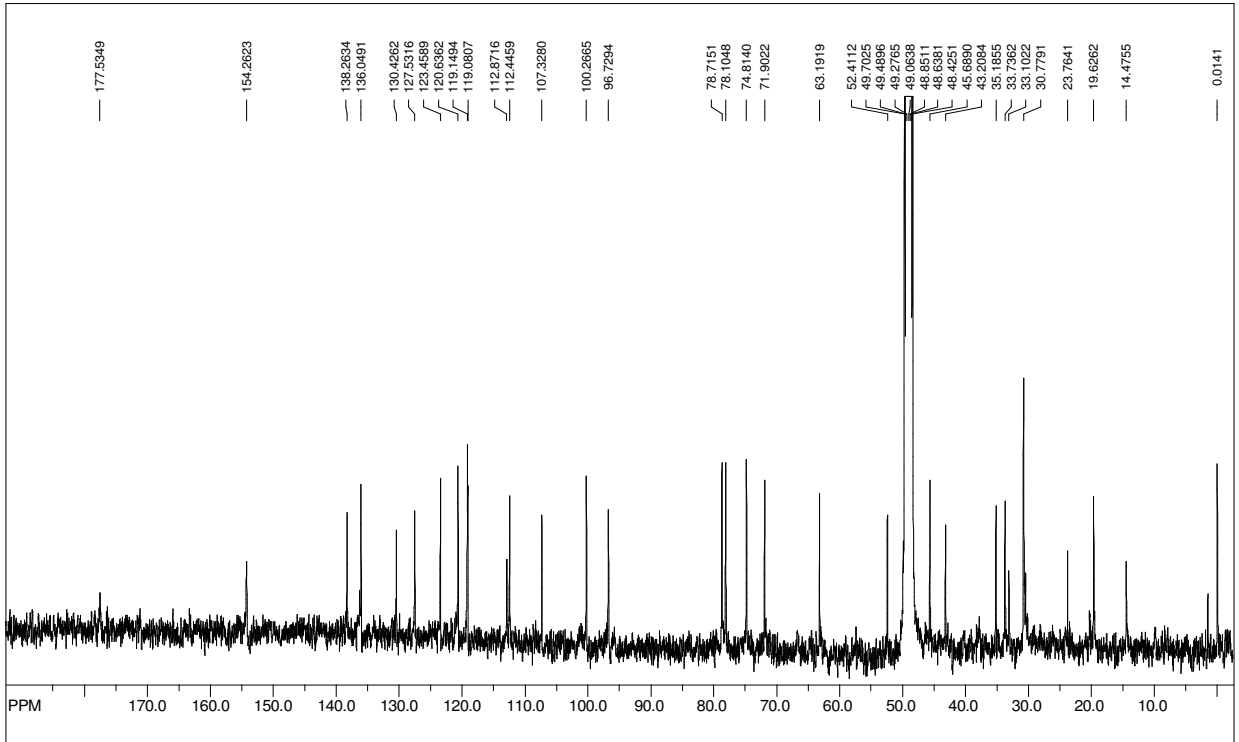


Figura 58 - Espectro DEPT 135 (100 MHz, CD_3OD) da substância PbCAc-1.

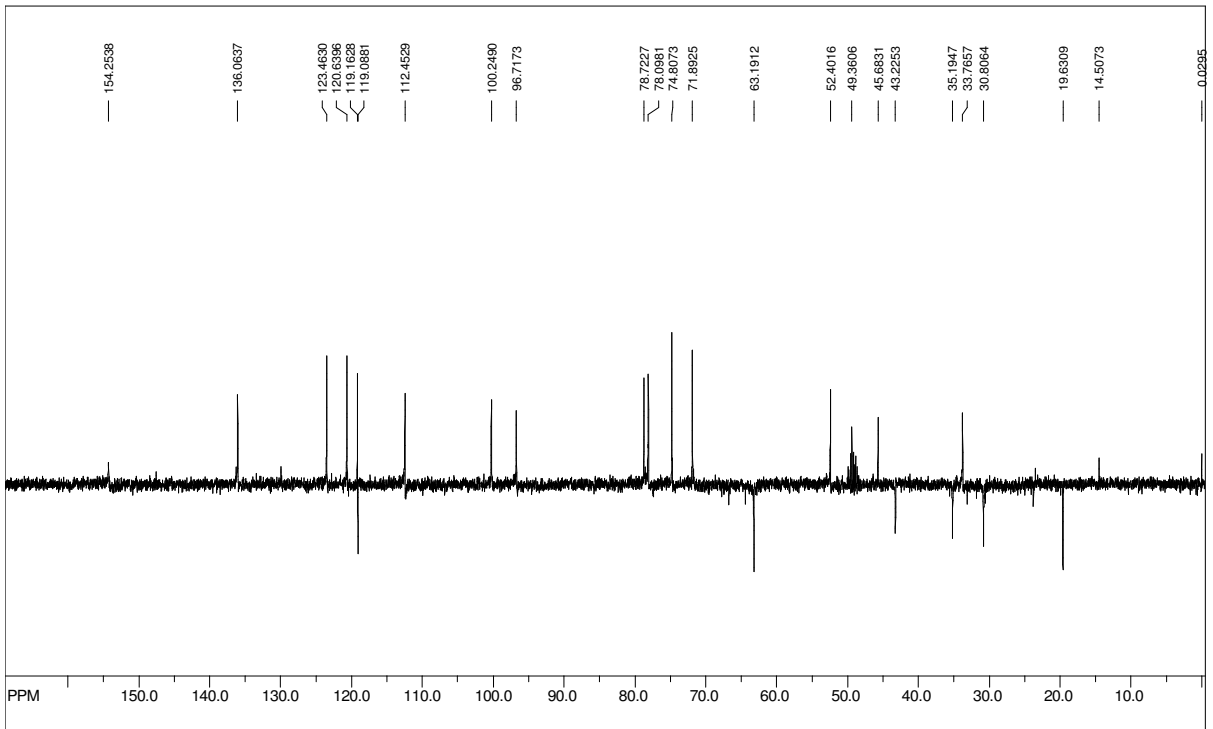
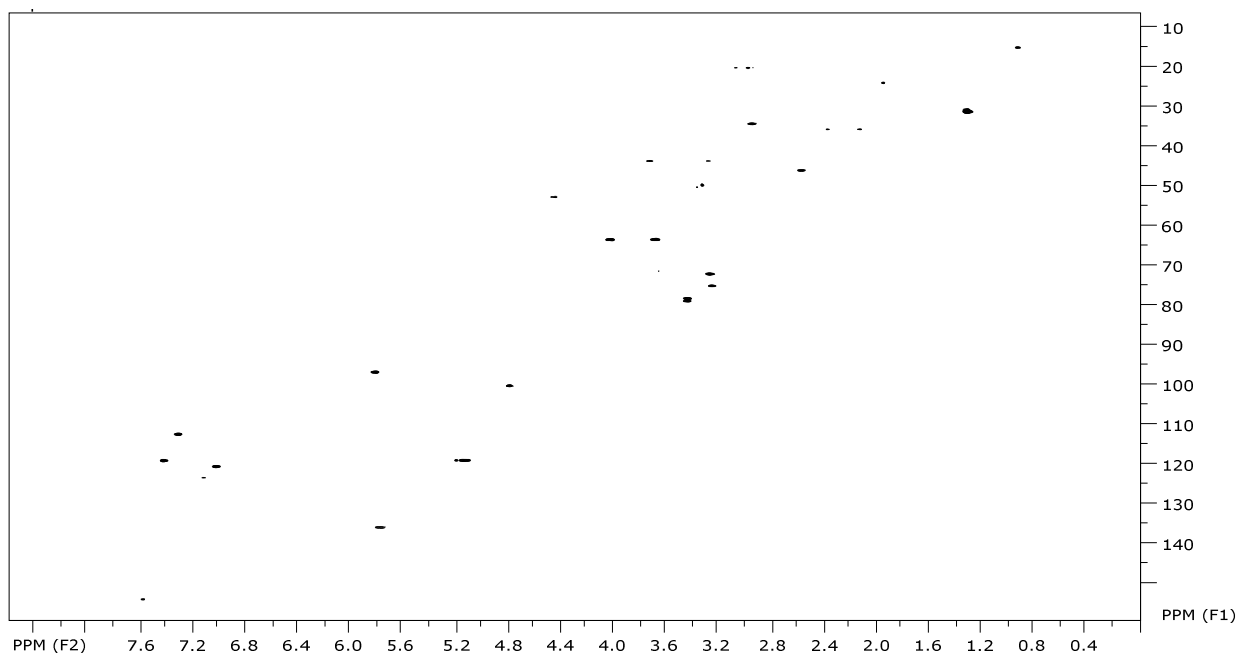


Figura 59 - Espectro HSQC (^1H : 400; ^{13}C : 100 MHz, CD_3OD) da substância PbCac-1.



5.6 Considerações Etnobotânicas e Quimiotaxonômicas Sobre a Espécie *P. Barbiflora*

A espécie *Psychotria barbiflora* D.C é conhecida no Brasil como erva-de-rato (SOUZA et al., 2000; PEREIRA e ALVES, 2007). Diversas plantas tidas como venenosas para animais, principalmente ruminantes, recebem esta mesma denominação popular. Na família Rubiaceae, somente as espécies *Palicourea marcgravii* St. Hill e *Psychotria barbiflora* foram inicialmente reconhecidas como tóxicas. no entanto, estudos posteriores permitiram incluir outras espécies destes gêneros nesta mesma classificação. No sul do Brasil, erva-de-rato virou sinônimo de planta que mata gado. A ingestão destas plantas causa um quadro de intoxicação, convulsões e arritmia cardíaca, podendo culminar com a chamada “morte súbita”, sendo a principal causa de morte, por problemas cardíacos, de bovinos no Brasil (SOUZA et al., 2000; TOKARNIA; DÖBEREINER; PEIXOTO, 2002; BRAGA et al., 2008; SCHONS et al., 2011).

Dentre as ervas-de-rato, a que apresenta maior problema para pecuária brasileira é sem dúvida a espécie *Palicourea marcgravii*, devido a sua ampla distribuição e por ser a maior causadora de “morte súbita” em bovinos (SCHONS et al., 2011). Vários estudos têm atribuído esta propriedade tóxica à presença do ácido monofluoracético e a fluoracetatos (DE OLIVEIRA, 1963; GORNIK; PALERMO-

NETO; SPINOSA, 1994; DE MORAES-MOREAU et al., 1995). No entanto, foi observado que a quantidade destes compostos em espécies de *Palicourea* é muito pequena e não seria por si só suficiente para causar a “morte súbita”, indicando a possível ação de outros compostos (KREBS; KEMMERLING; WILHELM, 1994; RIBEIRO DE ASSIS et al., 2006).

Diante deste impasse, KEMMERLING (1996) demonstrou que a presença de *N*-metiltiramina e de alcaloides β -carbolínicos são os principais compostos responsáveis pela toxicidade de *P. marcgravii*. A presença destes alcaloides é responsável pela inibição da monoamina oxidase A, provocando um aumento na intensidade dos estímulos de receptores α e β do sistema nervoso simpático, o que gera um aumento drástico na pressão sanguínea, e por consequência, uma distribuição mais rápida dos fluoroacetatos por todo corpo, chegando inclusive no coração. Esta sequência de reações aliada a maior absorvabilidade natural dos ruminantes torna *P. marcgravii* um “coquetel letal” para bovinos. Na planta os alcaloides β -carbolínicos possuem, dentre outras, a função de defesa, pois além de gerar diversos efeitos farmacológicos, nocivos, nos predadores, protegem-nas de infecções por vírus e por protozoários (ALLEN; HOLMSTEDT, 1980).

Como mencionado na revisão bibliográfica deste trabalho, o gênero *Psychotria* é bastante conhecido pelas espécies produtoras de alcaloides bioativos e taxonomia complexa (MORAES et al., 2011). Alguns autores, tal como TAYLOR (1996), a partir de observações morfológicas, sugere a fusão de algumas espécies do gênero *Palicourea* com espécies de *Psychotria* americanas (*Heteropsychotria*). TEIXEIRA; MACHADO (2004), em estudo relacionado ao sistema reprodutivo de *P. barbiflora* encontraram semelhanças com *Palicourea lasiorrachis* Benth. ex Oerst. Recentemente MORAES e cols. (2011) também demonstraram correlações morfológicas entre espécies de *Psychotria* da Mata Atlântica brasileira e o gênero *Palicourea*. Estas observações ganharam força com os estudos moleculares realizados por NEPOKROEFF; BREMER; SYSTMA (1999), ANDERSSON; ROVA (1999) e ANDERSSON (2001) com espécies da tribo Psychotrieae que permitiram inferir que espécies do subgênero *Heteropsychotria* possuem maior similaridade com algumas espécies de *Palicourea* do que com outras espécies de *Psychotria*.

LOPES e cols. (2004) associam a presença de alcaloides indol-monoterpênicos ao fato das espécies pertecerem ao subgênero *Heteropsychotria*. Esta hipótese foi constatada em nossa revisão bibliográfica dos alcaloides

presentes no gênero *Psychotria*. A revisão permitiu observar que todos os alcaloides que apresentam o esqueleto- β -carbolínico (Tabela 3, pp. 37-41) foram isolados de espécies coletadas em locais pertencentes a região neotropical. O isolamento dos alcaloides **Harmana** e **Ácido Strictosidínico**, da espécie *P. barbiflora*, coadunam com os argumentos de LOPES e cols., (2004) e permiti-nos incluir esta espécie no subgênero *Heteropsychotria*. Estes novos dados, também, corroboram com a fusão de *Heteropsychotria* com o gênero *Palicourea* uma vez que alcaloides β -carbolínicos e, sobretudo, indol-monoterpênicos com núcleo secologanínico têm sido descritos no gênero *Palicourea* (STUART; WOO-WING, 1974; MORITA et al., 1989; VALVERDE; TAMAYO; HESSE, 1999; DO NASCIMENTO et al., 2006; DO NASCIMENTO et al., 2008).

5.7 Ensaios para Avaliação das Atividades Antinociceptivas e Anti-inflamatória do Octacosanol (SgFH-1a) e do Ácido Siaresinólico (SgFC-1)

A busca pela identificação de compostos bioativos de plantas tornou-se uma estratégia de grande interesse em pesquisas farmacêuticas. Tais compostos têm sido aplicados no tratamento de diferentes condições, incluindo dor e inflamação (FERNANDEZ-ARCHE et al., 2009; DE SOUZA et al., 2010). Assim, a avaliação dos efeitos farmacológicos sobre estas condições podem ser úteis como uma estratégia para a descoberta de novas drogas de origem vegetal (OLIVEIRA et al., 2012). Vários ensaios de nocicepção e inflamação, utilizando diferentes modelos animais, vêm sendo utilizados como triagens para descrição de substâncias com potencial farmacológico. De maneira geral, esses ensaios, apresentam importantes características, tais como simplicidade, reprodutibilidade, validade dos resultados obtidos, além de permitirem correlações com estudos clínicos (DICKESSON; BESSON, 1997; PERAZA et al., 2007).

Diversas pesquisas que demonstram o potencial antinociceptivo e anti-inflamatório de misturas complexas de alcoóis de cadeia longa (policosanóis) de origem animal (CARBAJAL et al., 1998; RAVELO et al., 2011) e vegetal (FERNANDEZ-ARCHE et al., 2009), bem como de triterpenos (KINOSHITA et al., 1998; JUNG et al., 2005; PONOU et al., 2008; SOLDI et al., 2008), juntamente com a ausência de trabalhos que avaliem as atividades antinociceptiva e anti-inflamatória das substâncias isoladas e identificadas como **Octacosanol (SgFH-1a)** e **Ácido**

siaresinólico (SgFC-1) justificam a realização de ensaios biológicos com estas duas substâncias isoladas de frações ativas.

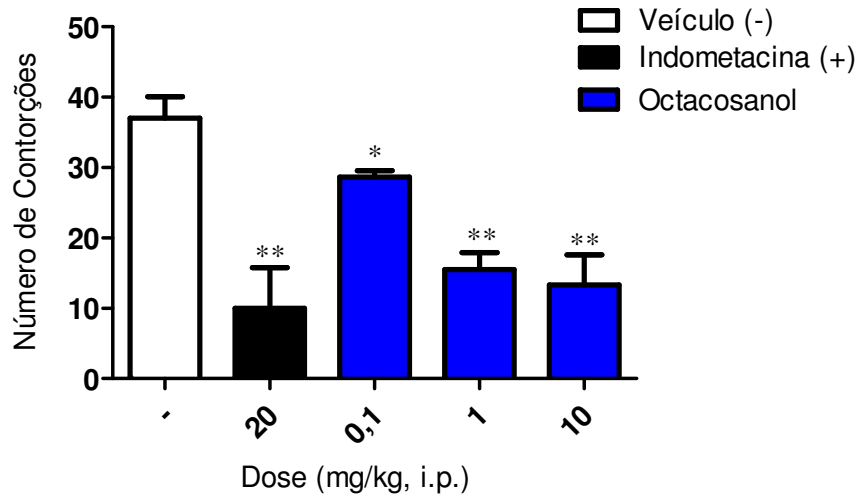
5.7.1 Contorções Abdominais Induzidas pelo Ácido Acético

Neste trabalho, as atividades antinociceptivas das substâncias identificadas como **Octacosanol (SgFH-1a)** e **Ácido siaresinólico (SgFC-1)** foram inicialmente avaliados usando o modelo experimental de analgesia periférica de contorções induzidas pelo ácido acético. Este tipo de ensaio tem sido muito utilizado como uma ferramenta de avaliação preliminar de propriedades analgésicas de novas substâncias (COLLIER et al., 1968).

A administração intraperitoneal de **Octacosanol** (0,1, 1 e 10 mg/kg; Figura 60, p. 139) e do **Ácido siaresinólico** (0,01, 0,1 e 1 mg/kg; Figura 61, p. 139), 60 min antes da injeção de ácido acético, produziu uma inibição significativa no número de contorções abdominais nos animais. Nas três doses testadas, as percentagens de inibição produzidas, em comparação com os respectivos controles negativos, foram de 22,5, 58,1 e 63,9%, respectivamente, para o **Octacosanol** e de 42,3, 58,2 e 70,9%, respectivamente, para o **Ácido siaresinólico**. Como esperado, em ambos os casos, a **Indometacina** (20 mg/kg, i.p.), um anti-inflamatório não esteroideal utilizado como controle positivo, produziu uma inibição significativa de 72,9% e 57,3% nestes dois experimentos.

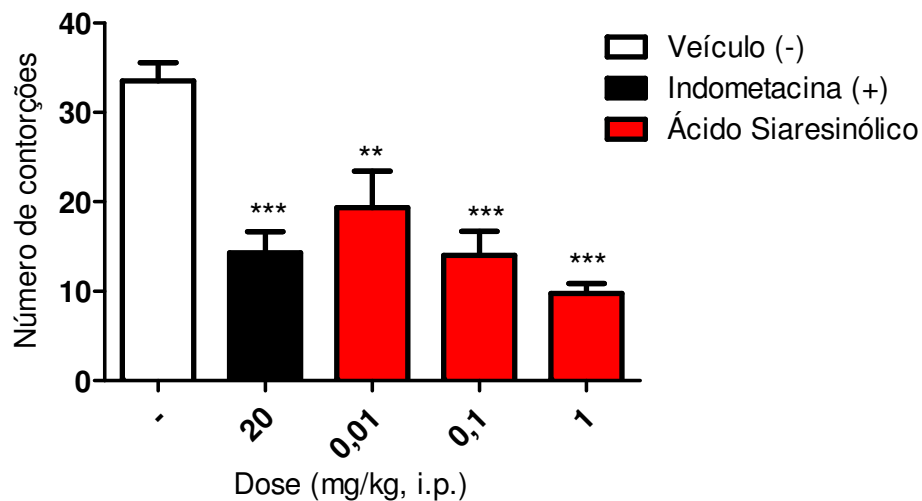
A ação do ácido acético em animais provoca liberação de substâncias endógenas, tais como prostaglandinas e citocinas, que estimulam os neurônios sensores primários levando a sensação nociceptiva (RIBEIRO et al., 2000). AMICO-ROXAS e cols. (1984) explicam de forma mais detalhada que a presença do ácido acético causa um aumento nos níveis do fluido peritoneal das prostaglandinas PGE2 e PGF2, envolvendo, em parte, os receptores peritoniais e causando dor inflamatória através da indução da permeabilidade capilar. Assim, os nossos resultados sugerem que as atividades de **Octacosanol** e do **Ácido siaresinólico** possam estar parcialmente associadas à redução da síntese e/ou ação de prostaglandinas interferindo com o mecanismo de transdução em nociceptores aferentes primários. Além disso, estes resultados sugerem que estes compostos são os responsáveis, pelo menos em parte, pela atividade observada em extratos das folhas de *S. grisea*.

Figura 60 - Efeito do *Octacosanol* no modelo de contorção abdominal induzida pelo ácido acético.



Valores expressos em média \pm E.P.M ($n = 6$). * $p < 0,05$ e ** $p < 0,01$ indica diferenças estatísticas significativas em relação ao grupo tratado com o veículo.

Figura 61 - Efeito do *Ácido siaresinólico* no modelo de contorção abdominal induzida pelo ácido acético



Valores expressos em média \pm E.P.M ($n = 6$). ** $p < 0,01$ e *** $p < 0,001$ indica diferenças estatísticas significativas em relação ao grupo tratado com o veículo.

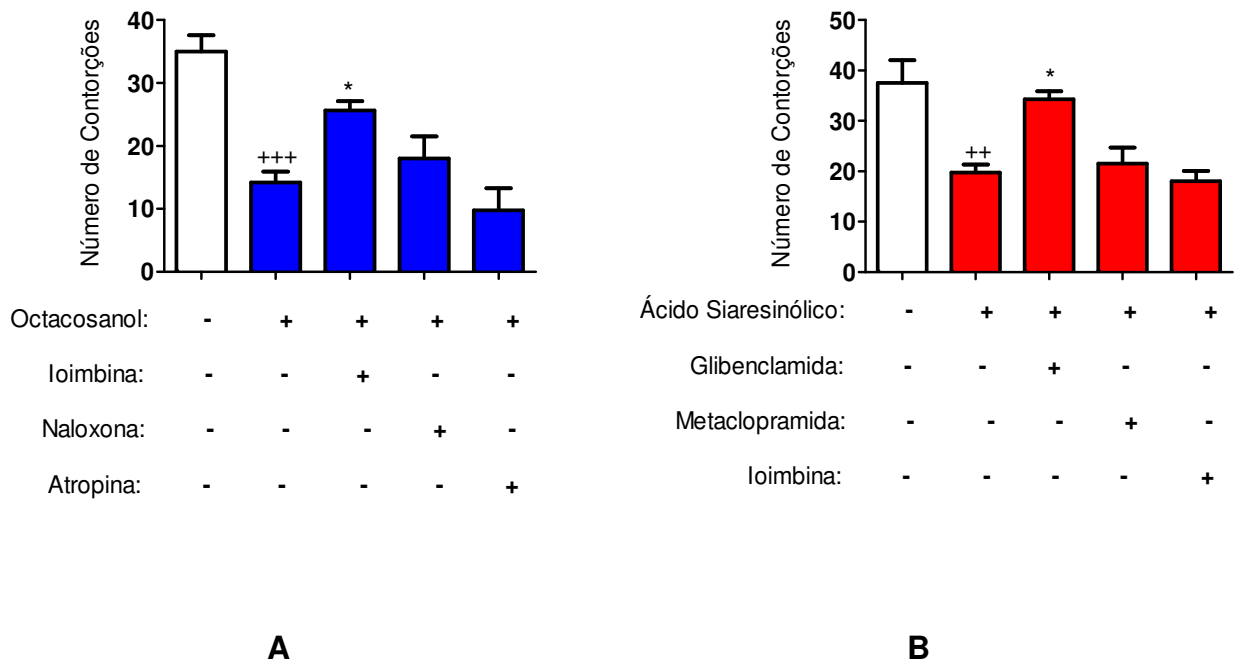
5.7.1.1 Análise dos Possíveis Mecanismos de Ação Envolvidos nas Atividades Antinociceptivas do Octacosanol e do Ácido Siaresinólico

Com objetivo de avaliar os possíveis mecanismos de ação envolvidos nas atividades antinociceptivas do **Octacosanol** e do **Ácido siaresinólico**, foram efetuados experimentos utilizando diferentes antagonistas de receptor. No caso do **Octacosanol**, foram utilizados antagonistas de receptor opióide (naloxona; 5 mg/kg), α 2-adrenérgico (ioimbina; 1 mg/kg) e muscarínico (atropina; 5 mg/kg) e com o **Ácido siaresinólico**, além da ioimbina (1 mg/kg), utilizou-se também antagonistas de receptores serotoninérgico e dopaminérgico (metoclopramida; 1 mg/kg) e um inibidor da abertura de canais de K^+_{ATP} (glibenclamida; 10 mg/kg), 15 minutos antes da administração dos compostos no teste de contorção induzida por ácido acético.

Os resultados obtidos com o **Octacosanol** (10 mg/kg, i.p.) demonstraram que o pré-tratamento com ioimbina (1 mg/kg) (Figura 62A, p. 141) foi capaz de reverter parcialmente o seu efeito antinociceptivo, sugerindo um possível envolvimento de receptores α 2-adrenérgicos. Os resultados com os demais antagonistas utilizados (naloxona e atropina), mesmo em doses elevadas o suficiente para bloquear receptores opiáceos e muscarínicos (YAKSH, 1997), não reverteram o efeito do **Octacosanol**, descartando, portanto, a via de ação que envolve estes dois tipos de receptores.

No caso do **Ácido siaresinólico** (1 mg/kg), o pré-tratamento dos animais com glibenclamida (10 mg/kg) (Figura 62B, p. 141), um inibidor da abertura de canais de K^+_{ATP} , foi observado a reversão do seu efeito antinociceptivo (1 mg/kg, i.p.), sugerindo um possível envolvimento de canais de K^+_{ATP} -dependente. Segundo ROMERO e DUARTE (2009) vários estudos têm demonstrado que a abertura de canais de K^+_{ATP} -dependente estaria relacionada com a fase final de diversos mecanismos antinociceptivos periféricos. Os resultados com os demais antagonistas utilizados (metaclopramida e ioimbina) foram inativos, permitindo descartar a participação de receptores serotoninérgicos e dopaminérgicos, bem como α 2-adrenérgicos.

Figura 62 - Efeito do pré-tratamento com ioimbina (1 mg/kg, s.c.), naloxona (5 mg/kg, s.c.), atropina (2 mg/kg, s.c.), glibenclamida (10 mg/kg, s.c.) e metaclopramida (1 mg/kg, s.c.) nos perfis antinociceptivos do *Octacosanol* (10 mg/kg; A) e do *Ácido siaresinólico* (1 mg/kg; B).



⁺⁺ $p < 0,01$ e ⁺⁺⁺ $p < 0,001$, indicam diferenças estatisticamente significativas em relação aos grupos não tratados. ^{*} $p < 0,05$, indica diferença em comparação com grupo tratado somente com ***Octacosanol*** e ***Ácido siaresinólico***. Sob o gráfico, os sinais + e - indicam a presença ou ausência do respectivo tratamento.

5.7.2 Nociceção Induzida por Estímulo Térmico

O modelo de placa-quente tem sido muito reportado como um teste capaz de avaliar os efeitos central de substâncias com ação antinociceptiva (LE BARS, 2001). Neste ensaio, o ***Octacosanol*** (1 e 10 mg/kg, i.p.) e o ***Ácido siaresinólico*** (0,1 e 1 mg/kg, i.p.) não exerceram, em relação ao controle negativo ($7,03 \pm 0,88$ s), qualquer alteração significativa na resposta de latência [***Octacosanol*** ($9,41 \pm 2,29$ e

10,08 ± 1,15 s, respectivamente) e **Ácido siaresinólico** (8,33 ± 0,69 e 8,85 ± 0,87 s, respectivamente)] contra a nocicepção induzida por estímulo térmico. Neste mesmo modelo, a morfina (controle positivo; 5 mg/kg, i.p.) aumentou significativamente a latência resposta (18,99 ± 1,41 s).

Os tratamentos com **Octacosanol** e **Ácido siaresinólico** foram capazes de induzir uma resposta antinociceptiva no teste de contorção abdominal. No entanto, estes tratamentos foram ineficazes no teste da placa quente, o que indica a não participação de neurotransmissão central, através da qual a estimulação térmica ativa nociceptores pela condução de impulsos pelo corno dorsal da medula espinhal, o que sugere uma possível ação periférica destes compostos.

5.7.3 Teste do Desempenho Motor (Rota-rod)

O teste de contorção abdominal apresenta permite que mesmo fracos efeitos antinociceptivos sejam observados, mas demonstra baixa especificidade, porque a resposta de contorções abdominais pode ser suprimida por relaxantes musculares e outras drogas, deixando margem para a interpretação dos resultados (LE BARS, 2001). Isto pode ser evitado complementando este ensaio com o uso de outros modelos de experimentação animal tal como o teste de motilidade. Por esta razão, animais tratados com **Octacosanol** e o **Ácido siaresinólico** foram avaliados no aparelho de rota-rod. Este ensaio é adequado para a detecção de comprometimento motor, devido aos efeitos de agentes farmacológicos, tais como relaxantes musculares ou depressores do sistema nervoso.

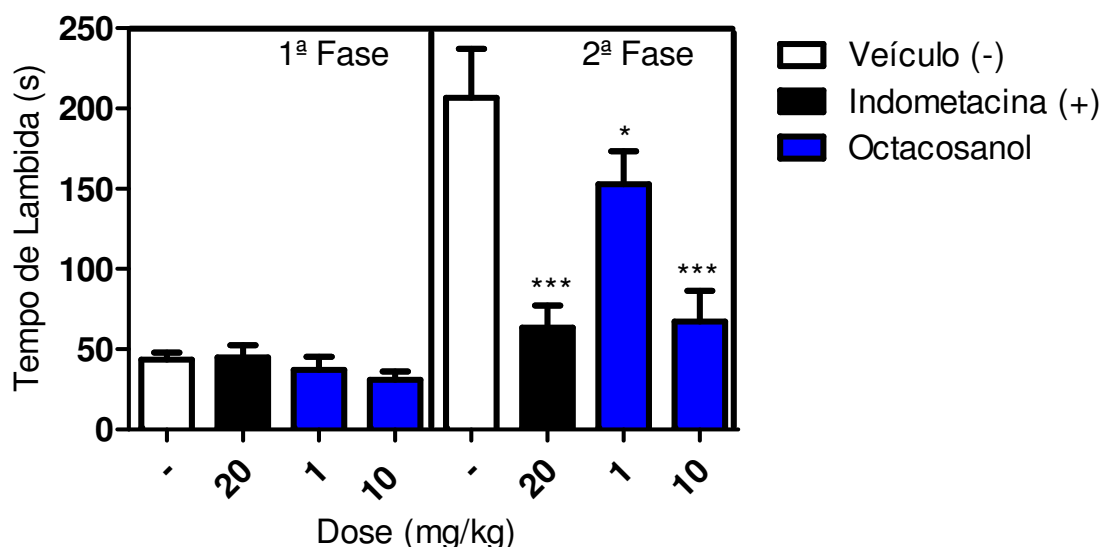
Neste ensaio, quando comparados com animais tratados somente com o veículo (205,33 ± 37,97 s), os animais tratados com **Octacosanol** [232,02 ± 39,00 s (10 mg/kg, i.p.)] ou **Ácido siaresinólico** [226,02 ± 45,65 s (1 mg/kg, i.p.)], não mostraram alterações significativas no desempenho do motor. Como esperado, o diazepam (controle positivo, 10 mg/kg, i.p.), o mais amplamente utilizado benzodiazepínico, que causa sedação e inibe a atividade locomotora, reduziu o tempo de desempenho motor dos animais após 30 minutos de tratamento (66,25 ± 15,39 s). Assim, como o **Octacosanol** e **Ácido siaresinólico** não afetaram o desempenho motor dos animais no teste de rota-rod, os efeitos do déficit de relaxamento motor foram excluídos.

5.7.4 Nocicepção Induzida por Formalina

Este experimento induz a lambida da pata do animal pela injeção intraplantar de formalina e é geralmente utilizado como um modelo de dor aguda, caracterizado pela presença de uma resposta nociceptiva bifásica. A primeira fase corresponde a dor neurogênica uma vez que envolve a ativação direta da formalina sobre receptores transientes e fibras sensoriais C, refletindo uma dor que é mediada centralmente (McNAMARA et al., 2007). A segunda fase da reação nociceptiva, também conhecida como dor inflamatória, é mediada pela participação de uma combinação de mediadores inflamatórios periféricos que a partir de tecidos lesados resultam na sensibilização dos neurônios nociceptivos centrais (TJOLSEN et al., 1992). MURRAY, PORRECA e COWAN (1988) relatam a participação da substância P e da bradicinina nas respostas da primeira fase; enquanto que os eicosanoides e citocinas mostram-se envolvidos nas respostas da segunda fase. Eles, também, estabelecem que as drogas que atuam primariamente no sistema nervoso central inibem as duas fases, enquanto que drogas com ação periférica só inibem a segunda fase.

No ensaio onde os animais foram tratados com o **Octacosanol** (Figura 63, p. 144), os tempos de lambida no grupo tratado apenas com o veículo para a primeira e segunda fases foram de $44,00 \pm 6,00$ s e $218,66 \pm 23,73$ s, respectivamente. Foram utilizadas as duas maiores doses (1 e 10 mg/kg de **Octacosanol**) que foram capazes de inibir estímulo nociceptivo induzida por ácido acético. Os grupos de animais pré-tratados (60 min) com este composto não tiveram qualquer efeito significativo sobre a duração do tempo de lambida na primeira fase ($37,20 \pm 8,98$ s e $31,00 \pm 6,36$ s, respectivamente); enquanto que ambas as doses produziu uma redução significativa na segunda fase ($152,75 \pm 23,97$ s e $67,25 \pm 21,97$ s, respectivamente). O fármaco de referência, a indometacina (20 mg/kg), inibiu significativamente a dor apenas na segunda fase do ensaio ($63,40 \pm 15,35$ s). Assim, nossos resultados demonstraram que o octacosanol suprimiu a resposta nociceptiva na fase inflamatória.

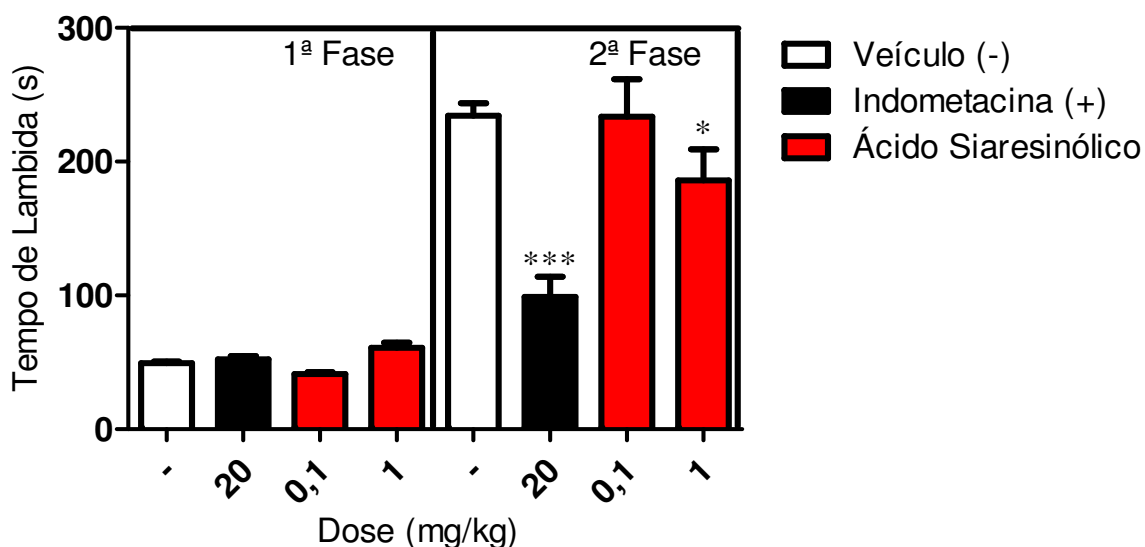
Figura 63 - Efeito do *Octacosanol* (1 e 10 mg/kg, i.p.) sobre a nocicepção induzida por formalina.



Valores expressos em média \pm E.P.M ($n = 6$). * $p < 0,05$ e *** $p < 0,001$ indica diferenças estatísticas significativas em relação ao grupo tratado com o veículo.

Por sua vez, o experimento realizado com o **Ácido siaresinólico** o tempo de lambida para a primeira fase foi $49,40 \pm 1,12$ s e para a segunda fase foi de $234,30 \pm 9,24$ s no grupo tratado com veículo (Figura 64, p. 145). Os grupos de animais pré-tratados (60 min) com **Ácido siaresinólico** (0,1 e 1 mg/kg) não apresentaram qualquer efeito significativo sobre a duração do tempo de lambida na primeira fase ($41,00 \pm 1,73$ s e $57,67 \pm 3,52$ s, respectivamente); enquanto que na segunda fase, apenas na dose de 1 mg/kg, produziu uma redução, estatisticamente significativa, na duração do tempo de lambida ($186,05 \pm 22,60$ s). De modo análogo, a indometacina (20 mg/kg), um anti-inflamatório usado como referência, inibiu significativamente a dor somente na segunda fase ($98,75 \pm 15,11$ s). Esses resultados sugerem uma possível ação anti-inflamatória do **Ácido siaresinólico**.

Figura 64 - Efeito do *Ácido siaresinólico* (0,1 e 1 mg/kg, i.p.) sobre a nocicepção induzida por formalina.



Valores expressos em média \pm E.P.M ($n = 6$). * $p < 0,05$ e *** $p < 0,001$ indica diferenças estatísticas significativas em relação ao grupo tratado com o veículo.

5.7.5 Pleurisia Induzida por Carragenina

A pleurisia induzida por agentes flogísticos é um modelo largamente aceito para a avaliação do efeito anti-inflamatório de substâncias e extratos vegetais (FARIAS et al., 2011). Este é um modelo clássico de indução de inflamação aguda que gera o envolvimento de vários tipos de mediadores químicos da inflamação, tais como aminas vasoativas, prostaglandinas e citocinas (MOORE, 2003). A administração de carragenina na cavidade pleural é caracterizada pelo acúmulo de fluídos ricos em proteína e infiltração de leucócitos polimorfonucleares, que desempenham funções importantes nos processos de inflamação de natureza patológica (FARIAS et al., 2011).

A avaliação das atividades anti-inflamatórias do *Octacosanol* e do *Ácido siaresinólico* foi realizada através do ensaio de pleurisia induzida por carragenina. Conforme pode ser observado na Tabela 16 (p. 147), o número total de leucócitos é substancialmente menor nos grupos de animais onde foram injetados apenas veículo. Após 4 h da administração de carragenina na cavidade pleural dos animais foi observada uma elevação no total de leucócitos, caracterizada também pelo

aumento de células mononucleares e de neutrófilos. O tratamento 1 h antes da aplicação da carragenina com **Octacosanol** (1 e 10 mg/kg, i.p.) e com o **Ácido siaresinólico** (0,1 e 1 mg/kg, i.p.) foi capaz de suprimir significativamente o recrutamento de leucócitos totais para cavidade pleural dos animais. Nossos resultados demonstraram, ainda, que o **Octacosanol** inibiu o influxo de neutrófilos, mas não alterou a migração de células mononucleares. Ao contrário, o **Ácido siaresinólico** inibiu o influxo de neutrófilos e a migração de células mononucleares (Tabela 16, p. 147). Histologicamente, a inflamação crônica está associada com a presença de células monucleares (GABAY, 2006). A inibição deste grupo de células pelo **Ácido siaresinólico** sugere uma possível ação frente a modelos de inflamação crônica.

A administração intrapleural de carragenina mostra-se capaz de provocar reações inflamatórias não específicas, que induz a ativação da imunidade inata e liberação periférica de fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) (TSUJI et al., 2003). Muitas atividades biológicas em processos inflamatórios têm sido atribuído ao TNF- α , incluindo febre, acúmulo de neutrófilos nos tecidos locais, indução de moléculas de adesão vascular e estímulo da síntese de proteínas de fase aguda (UTSUNOMIYA; ITO; OH-ISHI, 1998). A aplicação de carragenina causou um aumento acentuado da quantidade de TNF- α nos exsudatos pleurais, quando comparado com o grupo de animais tratados com o veículo. O tratamento com **Octacosanol** (1 e 10 mg/kg, i.p.) e **Ácido siaresinólico** (0,1 e 1 mg/kg, i.p.), 1 hora antes da aplicação da carragenina, causou significativa redução na concentração de TNF- α em comparação com o grupo tratado apenas com carragenina (Tabela 17, p. 147).

Tabela 16 - Efeitos do *Octacosanol* e do *Ácido siaresinólico* sobre o total de leucócitos, neutrófilos e células mononucleares no modelo de pleurisia induzida por carragenina (Cg) em camundongos.

Grupos de Animais	Total de Leucócitos	Neutrófilos	Células Mononucleares
Basal	1,86 ± 0,14	0,12 ± 0,13	1,74 ± 0,16
Cg + Veículo	11,85 ± 2,19 ⁺⁺⁺	8,05 ± 1,34 ⁺⁺⁺	3,19 ± 0,39 ⁺
Cg + Octacosanol (1 mg/kg)	5,70 ± 1,34 ^{**}	2,74 ± 0,53 ^{***}	2,89 ± 0,34
Cg + Octacosanol (10 mg/kg)	4,68 ± 0,51 ^{***}	2,22 ± 0,22 ^{***}	2,45 ± 0,34
Cg + Ac. Siaresinólico (0,1 mg/kg)	4,22 ± 0,21 ^{***}	2,21 ± 0,16 ^{***}	1,93 ± 0,12 ^{**}
Cg + Ac. Siaresinólico (1 mg/kg)	3,34 ± 0,33 ^{***}	1,5 ± 0,33 ^{***}	1,59 ± 0,22 ^{**}
Cg + Indometacina (20 mg/kg)	3,26 ± 0,48 ^{***}	1,24 ± 0,18 ^{***}	1,83 ± 0,36 ^{**}

Tabela 17 - Efeito do *Octacosanol* e do *Ácido siaresinólico* nos níveis de fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) no modelo de pleurisia induzida por carragenina (Cg) em camundongos.

Grupos de Animais	TNF- α	Inibição (%)
Basal	19,53 ± 11,49	-
Cg	164,50 ± 50,99 ⁺⁺	-
Cg + Octacosanol (1 mg/kg)	22,56 ± 14,80 ^{**}	86,28
Cg + Octacosanol (10 mg/kg)	24,56 ± 12,50 ^{**}	85,30
Cg + Ac. siaresinólico (0,1 mg/kg)	43,9 ± 15,20 [*]	73,31
Cg + Ac. siaresinólico (1 mg/kg)	9,3 ± 1,40 ^{***}	94,34
Cg + Indometacina (20 mg/kg)	19,15 ± 4,43 ^{**}	88,35

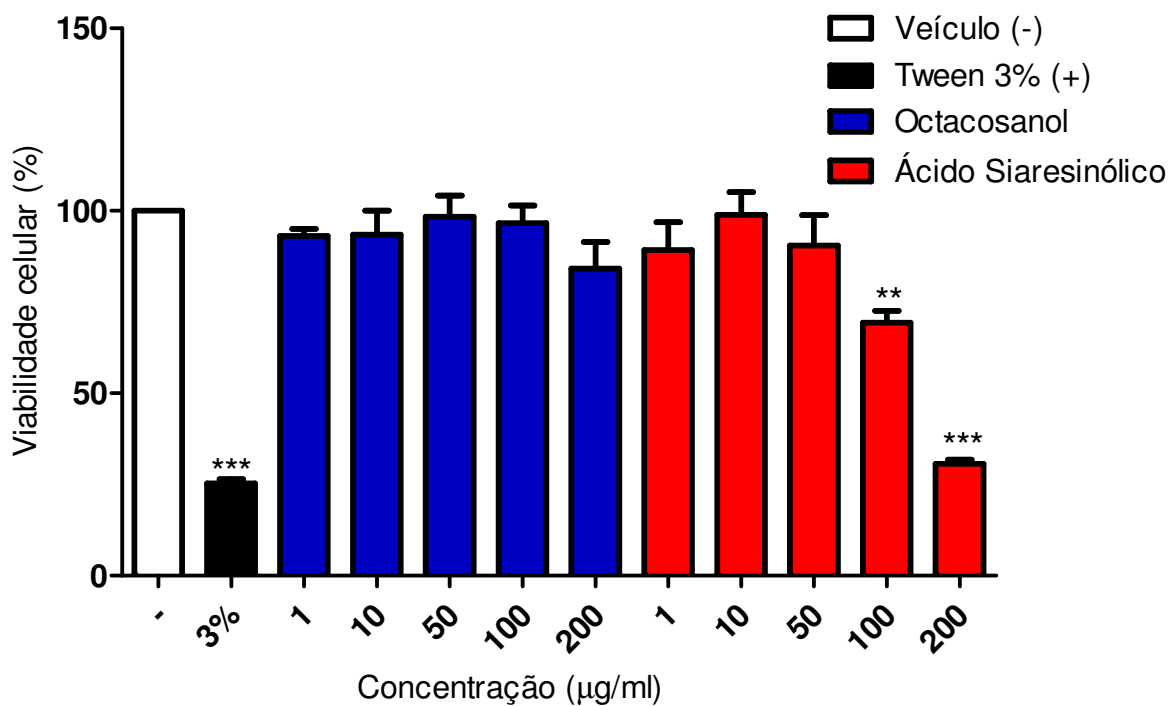
Valores expressos em média ± E.P.M ($n = 6$). Basal = Animais tratados apenas com o veículo. ⁺ $p < 0,05$, ⁺⁺ $p < 0,01$ e ⁺⁺⁺ $p < 0,001$ indica diferenças estatísticas significativas entre os grupos Cg + Veículo e Basal. ^{*} $p < 0,05$, ^{**} $p < 0,01$ e ^{***} $p < 0,001$ indicam diferenças significativas entre os grupos tratados com Octacosanol e Ácido siaresinólico em relação ao grupo tratado com o veículo.

5.8 Avaliação da Atividade Citotóxica do Octacosanol e do Ácido Siaresinólico

Dentre os ensaios *in vitro* utilizados para avaliar a citotoxicidade de substâncias e extratos vegetais mereça atenção o teste de redução do MTT [brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio] (MACIEL et al., 2002; WALKER et al., 2011). O uso cada vez maior deste ensaio é estimulado por ser uma ferramenta importante na redução do número de animais em testes de toxicidade aguda, além de apresentarem boa reprodutibilidade, fácil execução e custo relativamente baixo (VALADARES, 2006). Este ensaio parte do pressuposto de que efeitos adversos sobre as estruturas e processos celulares são intrínsecos a todas as células, sendo assim, a maioria dos sistemas celulares devem mostrar uma resposta similar, além de responder de forma equivalente quando a toxicidade é medida por critérios de viabilidade (CASTAÑO; GÓMEZ-LECHÓN, 2005).

A avaliação citotóxica frente a macrófagos peritoneais obtidos de camundongos Swiss demonstrou que não houve redução significativa na viabilidade celular nos grupos tratados com **Octacosanol** ($\leq 200 \mu\text{g/mL}$) e com o **Ácido siaresinólico** ($\leq 50 \mu\text{g/mL}$) (Figura 65, p. 149). Este último composto apresentou uma CI_{50} 154,80 $\mu\text{g/mL}$. Segundo o protocolo do National Cancer Institute (NCI) dos Estados Unidos, extratos vegetais que apresentam $\text{CI}_{50} \leq 30 \mu\text{g/mL}$ devem ser considerados como possuidores de atividade citotóxica significativa, enquanto que para substâncias isoladas este valor é de $\text{CI}_{50} \leq 4 \mu\text{g/mL}$ (GERAN, et al., 1972). Deste modo, os resultados apresentados revelam que o **Octacosanol** e o **Ácido siaresinólico** não apresentam efeitos citotóxicos significativos, em um período de exposição de 24 horas.

Figura 65 - Efeito do octacosanol e do ácido siaresinólico na viabilidade celular de macrófagos peritoneais obtidos de camundongos Swiss.



Valores obtidos em triplicatas e expressos em média \pm E.P.M. ** $p < 0,01$ e *** $p < 0,001$ indica diferenças estatísticas significativas em relação ao grupo tratado com o veículo.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos no presente trabalho envolvendo o estudo químico das espécies *S. grisea* Cham. & Schltdl. var. *grisea* e *P. barbiflora* DC. (*Rubiaceae*) e a avaliação das atividades antinociceptiva e anti-inflamatória de extratos, frações e substâncias isoladas, octacosanol e ácido siaresinólico, permitiram relacionar as seguintes conclusões:

- ◆ Os extratos e frações das folhas e caule de *S. grisea* demonstraram uma redução significativa na resposta nociceptiva dos animais, superiores ou comparáveis ao fármaco de referência;
- ◆ O estudo químico das frações das folhas de *S. grisea*, guiado pelo ensaio biológico, conduziu ao isolamento de dois alcoóis saturados de cadeia longa, octacosanol e hexacosanol; dois triterpenos pentacíclicos da série oleanano ácido siaresinólico e ácido 3-O- α -L-rhamnopiranosil-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopiranosil-siarsinólico; além de dois fitoesteróides β -sitosterol e 3-O- β -D-glicopiranosil-sitosterol;
- ◆ O estudo químico da fração em CHCl₃ do caule de *S. grisea* conduziu ao isolamento de uma cumarina, a escopoletina, dois derivados do ácido benzoico, ácidos salicílico e vanílico e um derivado do ácido cafeico, o cafeato de etila. O fato de todos compostos isolados da fração em CHCl₃ possuírem reconhecida atividade antinociceptiva, explica, em parte, a atividade observada nesta fração. Do caule foram isolados, ainda, o β -Sitosterol e o 3-O- β -D-glicopiranosil-sitosterol;
- ◆ Todas as substâncias isoladas estão sendo descritas pela primeira vez no gênero *Sabicea*. Dentro da família Rubiaceae, foi observado que a presença do ácido siaresinólico e de saponinas derivadas deste ácido é restrita a subfamília Ixoroideae. Não foi encontrado registro, na literatura, do ácido 3-O- α -L-rhamnopiranosil-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopiranosil-siarsinólico, sendo, portanto, um novo produto natural, designado por nós de Gottliebsídeo – uma singela homenagem ao maior Químico em Produtos Naturais do Brasil, Otto Richard Gottlieb;

- ◆ A avaliação da atividade antinociceptiva dos extratos e frações de *P. barbiflora*, também, demonstrou uma redução significativa na resposta nociceptiva, destacando-se as frações com reações positivas para alcaloides (CHCl₃, AcOEt e MeOH-H₂O) apresentando porcentagem de inibição superiores ou comparáveis ao fármaco de referência;
- ◆ O estudo químico das folhas e caule de *P. barbiflora* conduziu ao isolamento de dois alcaloides do tipo β-carbolínico, a harmana e o ácido strictosidínico. Estas substâncias estão sendo descritas pela primeira vez na espécie em estudo. A presença destas substâncias pode ser responsável, pelo menos em parte, pela atividade observada nas frações alcaloídicas, uma vez que ambas são descritas como possuidoras de atividade antinociceptiva;
- ◆ O isolamento dos alcaloides harmana e ácido strictosidínico, da espécie *P. barbiflora*, coaduna com a inclusão desta espécie no subgênero *Heteropsychotria* e corrobora com a fusão de *Heteropsychotria* com o gênero *Palicourea* uma vez que alcaloides β-carbolínicos e, sobretudo, indol-monoterpênicos com núcleo secologanínico têm sido descritos no gênero *Palicourea*;
- ◆ O octacosanol possui um efeito antinociceptivo periférico que é mediado provavelmente por receptores α₂-adrenérgicos. Além disso, este composto inibiu o influxo de neutrófilos, bem como os níveis de TNF-α no modelo de pleurisia induzida por carragenina, indicando uma ação anti-inflamatória;
- ◆ O ácido siaresinólico também apresentou efeito antinociceptivo periférico, com um provável envolvimento de canais de K⁺ATP-dependente. Além disso, este composto inibiu o recrutamento de células inflamatórias, bem como os níveis de TNF-α no modelo de pleurisia induzida por carragenina, o que sugere uma possível ação anti-inflamatória;
- ◆ Octacosanol e o ácido siaresinólico não apresentaram efeitos citotóxicos quando avaliados no modelo *in vitro*.

- ◆ Com base nestes novos dados podemos concluir que o octacosanol e o ácido siaresinólico podem ser úteis no desenvolvimento de novas estratégias para o tratamento da dor e inflamação;

Como perspectivas futuras, têm-se:

- ◆ Avaliação da ação do ácido siaresinólico em modelos de inflamação crônica;
- ◆ Avaliação toxicológica dos extratos de *P. barbiflora*.

REFERÊNCIAS

- ACHENBACH, H. et al. Alkaloids and other compounds from *Psychotria correae*. **Phytochemistry**, v. 38, p. 1537-1545, 1995.
- ADJIBADE, Y. et al. Dimeric alkaloids from *Psychotria forsteriana*. **Phytochemistry**, v. 31, p. 317-319, 1992.
- ALLEN, J. R. F.; HOLMSTEDT, B. The simple β -carboline alkaloids. **Phytochemistry**, v.19, p. 1573-1582, 1980.
- ALMEIDA, E. M.; ALVES, M. A. S. Fenologia de *Psychotria nuda* e *P. brasiliensis* (Rubiaceae) em uma área de floresta atlântica no sudeste do Brasil. **Acta Bot. Bras.**, v. 14, p.335-346, 2000.
- ALMEIDA, E. F. A. et al. Diferentes substratos e ambientes para enraizamento de mini-ixora (*Ixora coccinea* 'Compacta'). **Ciênc. Agrotec.**, v. 32, p.1449-1453, 2008.
- ALWANI, M. et al. Bioactive sphingolipids in the modulation of the inflammatory response. **Pharmacol. Ther.**, v. 112, p. 171-183, 2006.
- AMADOR, T.A. et al. Antinociceptive profile of Hodgkinsine. **Planta Med.**, v.66, p. 770-802, 2000.
- AMADOR, T. A. et al. Involvement of NMDA receptors in the analgesic properties of psychotridine. **Phytomedicine**, v.8, p. 202-206, 2001.
- AMICO-ROXAS, M. et al. Gangliosides antinociceptive effects in rodents. **Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.**, v. 272, p. 103-117, 1984.
- ANCOLIO, C. et al. Antimalarial activity of extracts and alkaloids isolated from six plants used in traditional medicine in Mali and Sao Tome. **Phytother. Res.**, v. 16, p. 646-649, 2002.
- ANDERSSON, L.; ROVA, J. H. E. The *rps16* intron and the phylogeny of the Rubioideae (Rubiaceae). **Pl. Syst. Evol.**, v. 214, p.161-186, 1999.
- ANDERSSON, L. *Margaritopsis* (Rubiaceae, Psychotrieae) is a pantropical genus. **Syst. Geogr. Pl.**, v. 71, p. 73-85, 2001.
- ANDERSSON, L. Re-establishment of *Carapichea* (Rubiaceae, Psychotrieae). *Kew Bull.* v. 57, p. 363-374, 2002.

APLIN, R. T. et al. An examination of the Rubiaceae of Hong Kong. Part VIII. The structure of spinosic acid A, a new triterpenoid sapogenin from *Randia spinosa* (Thunb.) Poir. **J. Chem. Soc.** v. C, p. 106-169, 1971.

ARAÚJO-JÚNIOR, V. T. et al. Alkaloids and Diterpenes From *Croton moritibensis*. **Pharm. Biol.**, v. 42, p. 62-67, 2004.

ARICIOGLU, F.; KORCEGEZ, E.; OZYALCIN, S. Effect of harmaline on mononeuropathic pain in rats. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, v. 1009, p.180-184, 2003.

ARICIOGLU, F. et al. Effect of harmaline on the convulsive threshold in epilepsy models in mice. **Ann. N.Y. Acad. Sci.**, v. 1009, p. 190-195, 2003

ARRIETA, J. et al. Amoebicidal and giardicidal compounds from the leaves of *Zanthoxylum liebmannianum*. **Fitoterapia**, v. 72, p. 295-297, 2001.

AWAD, A. B. et al. In vitro and in vivo (SCID mice) effects of phytosterols on the growth and dissemination of human prostate cancer PC-3 cells. **Eur. J. Cancer Prev.**, v.10, p. 507-513, 2001.

AWAD, A. B. et al. β -Sitosterol enhances tamoxifen effectiveness on breast cancer cells by affecting ceramide metabolism. **Mol Nutr Food Res.**, v. 52, p. 419–426, 2008.

AWARD, R. et al. Ethnopharmacology of Q'eqchi' Maya antiepileptic and anxiolytic plants: effects on the GABAergic system. **J. Ethnopharmacol.**, v. 125, p. 257-264, 2009.

AZZOUZ, M. et al. Enhancement of mouse sciatic regeneration by the long chain fatty alcohol, N-hexacosanol. **Exp. Neurol.**, v. 138, p. 189-197, 1996.

BARREIRO, E. J.; BOLZANI, V. S. Biodiversidade: fonte potencial para a descoberta de fármacos. **Quim. Nova**, v. 32, p. 679-688, 2009.

BASBAUM, A. I. et al. Cellular and molecular mechanisms of pain. **Cell.**, v. 139, n. 2, p. 267-284, 2009.

BAYKAL, T. Two monodesmosidic saponins from saponins from *Scabiosa rotata* Bieb. **J. Fac. Pharm. Gazi Univ.**, v. 16, p. 1-6, 1999 (*Chem. Abstr.*, 2000, **132**, 119849t).

BAYOUMI, S.A.L. et al. Constituents and secondary metabolite natural products in fresh and deteriorated cassava roots. **Phytochemistry**, v. 71, p. 598-604, 2010.

BERGES, R. R. et al. Randomized, placebo-controlled, double-blind clinical trial of β -sitosterol in patients with benign prostatic hyperplasia. **Lancet**, v. 345, p. 1529-1532, 1995.

BERNACCHIO, R. M. G.; CONTIN, I.; MORI, M. Fatores modificadores da percepção da dor. **Rev. Dor**, v. 6, p. 621-633, 2005.

BERNHARD, M. et al. Dopamine-iridoid alkaloids in *Carapichea affinis* (= *Psychotria borucana*) confirm close relationship to the vomiting root Ipecac. **Biochem. Syst. Ecol.**, v. 38, p. 232-235, 2011.

BRAGA, P. I. S. et al. **A vegetação das comunidades da área de influência do projeto Piatam e do gasoduto Coari-Manaus**. 2. ed. rev. Manaus: Instituto I-Piatam, 2008.

BRAZ-FILHO, R. Contribuição da fitoquímica para um desenvolvimento de um país emergente. **Quim. Nova**, v. 33, p. 229-239, 2010.

BOSELLI, E. et al. Ethyl caffeate from Verdicchio wine: Chromatographic purification and in vivo evaluation of its antifibrotic activity. **J. Sep. Sci.**, v. 32, p. 3585-3590, 2009.

BOURINET, E. et al. Silencing of the Cav3.2 T-type calcium channel gene in sensory neurons demonstrates its major role in nociception. **EMBO J.**, v. 24, p. 315-324, 2005.

CABALLERO-GEORGE, C.; GUPTA, M. P. A Quarter Century of Pharmacognostic Research on Panamanian Flora: A Review. **Planta Med.**, v. 77, p. 1189-1202, 2011.

CAI, X-F. et al. Anti-inflammatory Constituents from *Solanum nigrum*. **Bull. Korean Chem. Soc.**, v. 31, p. 199-201, 2010.

CALIXTO, J.B. Biodiversidade como fonte de medicamentos. **Cienc. Cult.**, v. 55, p. 37-39, 2003.

CAPRASSE, M.; COUNE, C.; ANGENOT, L. Isolement et structure de trois bases anhydronium du *Strychnos usambarensis* du Rwanda. **J. Pharm., Belg.**, v. 38, p. 135-139, 1983.

CARBAJAL, D. et al. Anti-inflammatory activity of D-002: An active product isolated from beeswax. **Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids**, v. 59, p. 235-238, 1998.

COLOMBO, R. et al. Validated high-performance liquid chromatographic method for the standardisation of *Ptychopetalum olacoides* Benth., Olacaceae, commercial extracts. **Rev. Bras. farmacogn.**, v. 20, p. 781-788, 2010.

COUNE, C.; ANGENOT, L.; DENOËL, J. ^{13}C NMR Des alcaloides des *Strychnos*: Les derives de L'harmane et de L'usambarensine. **Phytochemistry**, v. 19, p. 2009-2011, 1980.

CAPRA, J.C. et al. Antidepressant-like effect of scopoletin, a coumarin isolated from *Polygala sabulosa* (Polygalaceae) in mice: Evidence for the involvement of monoaminergic systems. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 643, p. 232-238, 2010.

CASTAÑO, A.; GÓMEZ-LECHÓN, M. J. Comparison of basal cytotoxicity data between mammalian and fish cell lines: a literature survey. **Toxicol. Vitro**, v. 19, p. 695-705, 2005.

CATAPAN, E. et al. Pharmacological activity and chemical composition of callus culture extracts from selected species of *Phyllanthus*. **Pharmazie**, v.55, p. 945-946, 2000.

CHIANG, Y. et al. Ethyl caffeate suppresses NF- κ B activation and its downstream inflammatory mediators, iNOS, COX-2, and PGE₂ *in vitro* or in mouse skin. **Br. J Pharmacol.**, v. 146, p. 352-363, 2005.

CHOZE, R.; DELPRETE, P. G.; LIÃO, L. M. Chemotaxonomic significance of flavonoids, coumarins and triterpenes of *Augusta longifolia* (Spreng.) Rehder, Rubiaceae-Ixoroideae, with new insights about its systematic position within the family. **Rev. Bras. Farmacogn.**, v. 20, p. 295-299, 2009.

COLLIER, H. O. J. et al. Abdominal constriction response and its suppression by analgesic drugs in mouse. **Br. J. Pharmacol.**, v. 32, p. 295-310, 1968.

CORDELL, G. A. Phytochemistry and traditional medicine – A revolution in process. **Phytochem. Lett.**, v. 4, p. 391-98, 2011.

COUSSENS, L. M.; WERB, Z. Inflammation and cancer. **Nature**, v. 420, p. 860-867, 2002.

CROSBY, D. G. Improved Synthesis of Scopoletin. **J. Org. Chem.**, v. 26, p. 1215-1217, 1962.

CURIR, P. et al. Fungitoxic phenols from Carnation (*Dianthus caryophyllus*) effective against *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*. **Phytochem. Anal.**, v. 14, p. 8-12, 2003.

DA CRUZ, H. M. F. et al. Quedas em idosos com dor crônica: prevalência e fatores associados. **Rev. Dor**, v. 12, p. 108-114, 2011.

DAVID, J. P. L.; DAVID, J. M. Plantas medicinais. Fármacos derivados de plantas. In: PENILDON, S (Ed.) **Farmacologia**, 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p. 134-145.

DELAQUIS, P.; STANICH, K.; TOIVONEN, P. Effect of pH on the inhibition of *Listeria* spp. by vanillin and vanillic acid. **J. Food Prot.**, v. 68, p. 1472-1476, 2005.

DE MEESTER, C. Genotoxic potential of β -carbolines: a review. **Mutat. Res.**, v. 339, p.139-153, 1995.

DE MORAES-MOREAU, R.L. et al. Chemical and biological demonstration of the presence of monofluoroacetate in the leaves of *Palicourea marcgravii*. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, 28, 685-692, 1995.

DE OLIVEIRA, M. M. Chromatographic isolation of monofluoroacetic acid from *Palicourea marcgravi*. **Experientia**, v.19, p. 586-587, 1963.

DE SANTOS, L. V. D. et al. Indole monoterpene alkaloids from leaves of *Psychotria suterella* Mull. Arg. (Rubiaceae). **Biochem. Syst. Ecol.**, v. 29, p. 1185-1187, 2001.

DE SOUSA, O. V. et al. Antinociceptive and anti-inflammatory activities of the ethanol extract of *Annona muricata* L. leaves in animal models. **Int. J. Mol. Sci.**, v.11, p. 2067–2078, 2010.

DHANANJAYA, B. L. et al. Anticoagulant effect of *Naja naja* venom 50 nucleotidase: demonstration through the use of novel specific inhibitor, vanillic acid. **Toxicon**, v. 48, p. 411-421, 2006.

DICKENSON, A.; BESSON, J. M. Mechanisms of central hypersensitivity: excitatory amino acid mechanisms and their control. In: Dickenson, A., Besson, J.M. Eds., **Handbook of Experimental Pharmacology. The Pharmacology of Pain**. Ed. Springer, Berlin, v. 130, p.167-210, 1997.

DI GIORGIO, C. et al. *In vitro* activity of the β -carboline alkaloids harmine, harmine, and harmaline toward parasites of the species *Leishmania infantum*. **Exp. Parasitol.**, v. 106, p. 67-74, 2004.

DING, Z.; DAI, Y.; WANG, Z. Hypouricemic action of scopoletin arising from xanthine oxidase inhibition and uricosuric activity. **Planta Med.** v. 71, p. 183-185, 2005.

DO NASCIMENTO, C. A. et al. Alkaloids from *Palicourea coriacea* (Cham.) K. Schum. **Naturforsch., B: Chem. Sci.**, v. 61b, p. 1443–1456, 2006.

DO NASCIMENTO, C. A. et al. A tetrahydro β -carboline trisaccharide from *Palicourea coriacea* (Cham.) K. Schum. **Carbohydr. Res.**, v. 343, p. 1104-1107, 2008.

DRAY, A. Kinins and their receptors in hyperalgesia. **Can. J. Physiol. Pharmacol.**, v. 75, p. 704-712, 1997.

DUBOIS, M. Y.; GALLAGHER, R. M.; LIPPE, P. M. Pain medicine position paper. **Pain Med.**, v.10, p. 972–1000, 2009.

DUNSTAN, C.A. et al. Evaluation of some Samoan and Peruvian medicinal plants by prostaglandin biosynthesis and rat ear edema assays. **J. Ethnopharmacol.**, v. 57, p. 35-56, 1997.

DUNHAM, N. W.; MIYA, T. S. A note on a simple apparatus for detecting neurological deficit in rats and mice. **J. Am. Pharm. Assoc.** 1957, v. 46, p. 208-209, 1957.

EL GENDY, M. A.; EL-KADI, A. O. Harman induces CYP1A1 enzyme through an aryl hydrocarbon receptor mechanism **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, v. 249, p. 55–64, 2010.

ELISABETSKY, E. et al. Analgesic activity of *Psychotria colorata* (Willd. ex R. & S.) Muell. Arg. Alkaloids. **J. Ethnopharmacol.**, v. 48, p. 77-83, 1995.

EDDY, N. B.; LEIMBACH, D. Synthetic analgesics. II. Dithienylbutenyl- and dithienylbutylamines. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 107, p. 385-393, 1953.

FARIA, E. O. et al. Quaternary β -carboline alkaloids from *Psychotria prunifolia* (Kunth) Steyerem. **Phytochem. Lett.**, v. 3, p. 113-116, 2010.

FARIAS, F. M. ***Psychotria myriantha* Müll Arg. (Rubiaceae): caracterização dos alcaloides e avaliação das atividades antiqumiotóxica e sobre o sistema nervoso central.** Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.

FARIAS, F. M. et al. Strictosamide from *Psychotria nuda* (Cham. Et Schltldl) Wawra (Rubiaceae). **Biochem. Syst. Ecol.**, v. 36, p. 919-920, 2009.

FARIAS, F.M. et al. Monoamine levels in rat striatum after acute intraperitoneal injection of strictosidinic acid isolated from *Psychotria myriantha* Mull. Arg. (Rubiaceae). **Phytomedicine**, v. 17, p. 289-291, 2010.

FARIAS, J.A. et al. Modulation of inflammatory processes by leaves extract from *Clusia nemorosa* both *in vitro* and *in vivo* animal models. **Inflammation**, v. 35, p. 764-771, 2012.

FARZIN, D.; MANSOURI, N. Antidepressant-like effect of harmaline and other beta-carbolines in the mouse forced swim test. **Eur. Neuropsychopharmacol.** v. 16, p. 324-328, 2006.

FERNANDEZ-ARCHE, A. et al. Long-chain fatty alcohols from pomace olive oil modulate the release of proinflammatory mediators. **J. Nutr. Biochem.**, v. 20, p. 155–162, 2009.

FINNEY, D.J. **Probit analyses**. Cambridge: Cambridge University Press, 1972.

FLOWER, R. J.; PERRETTI, M. Controlling inflammation: a fat chance? **J. Exp. Med.**, v. 201, p. 671-674, 2005.

FREITAS, C. C. et al. Avaliação da dor com o uso das escalas unidimensionais. **Rev. Dor**, v. 10, p. 56-62, 2009.

GABAY, C. Interleukin-6 and chronic inflammation. **Arthritis Res. Ther.**, v. 8 (Supl2), p. S3, 2006.

GALLIN, J. I. et al. Human neutrophil-specific granule deficiency: a model to assess the role of neutrophil-specific granules in the evolution of the inflammatory response. **Blood**, v. 59, p. 1317-1329, 1982.

GAO, G-C. et al. Triterpenoid saponins with antifeedant activities from stem bark of *Catunaregam spinosa* (Rubiaceae) against *Plutella xylostella* (Plutellidae). **Carbohydr. Res.**, v. 346, p. 2200-05, 2011a.

GAO, G-C. et al. Triterpenoid saponins from the stem bark of *Catunaregam spinosa*. **Can. J. Chem.**, v. 89, p. 1277-1282, 2011b.

GARCIA, R. M. A. et al. Variation in emetine and cephaeline contents in roots of wild Ipecac (*Psychotria ipecacuanha*). **Biochem. Syst. Ecol.**, v. 33, p. 233-243, 2005.

GERAN, R. I. et al. **Cancer Chemother. Rep.**, v. 2, p. 121-135, 1972.

GERLACH, S. L. et al. Isolation, Characterization, and Bioactivity of Cyclotides from the Micronesian Plant *Psychotria leptothyrsa*. **J. Nat. Prod.**, v. 73, 1207-1213, 2010.

GORNIK, S. L.; PALERMO-NETO, J.; SPINOSA, H. S. Effects of acetamide on experimentally-induced *Palicourea marcgravii* (St. Hill) poisoning in rats. **Vet. Hum. Toxicol.**, v. 36, p. 101-102, 1994.

GORZALCZANY, S. et al. Antinociceptive activity of ethanolic extract and isolated compounds of *Urtica circularis*. **J. Ethnopharmacol.**, v. 134, p. 733-738, 2011.

GRUNDY, S. M. Inflammation, hypertension and the metabolic syndrome. **JAMA**, v. 290, p. 3000-3002, 2003.

GUÉRITTE-VOEGELEIN, F. et al. Alkaloids from *Psychotria oleoides* with activity on growth hormone release, **J. Nat. Prod.**, v. 55, p. 923-930, 1992.

GUPTA, S. R.; SESHADRI, T. R.; SOOD, G. R. Flavonols and other components of the leaves of *Calycopteris floribunda*. **Phytochemistry**, v. 12, p. 2539-2540, 1973.

HADI, S.; BREMNER, J. B. Initial studies on alkaloids from Lombok medicinal plants. **Molecules**, v. 6, p.117-129, 2001.

HAMILL, F. A. et al. Traditional herbal drugs of southern Uganda Part III: Isolation and methods for physical characterization of bioactive alkanols from *Rubus apetalus*. **J. Ethnopharmacol.**, v. 87, p. 15-19, 2003.

HANAUER, S. B. Inflammatory bowel disease: epidemiology, pathogenesis, and therapeutic opportunities. **Inflamm. Bowel Dis.**, v. 12 (supl. 1), p. S3-S9, 2006.

HANSSON, G. K. Inflammation, atherosclerosis and coronary artery disease. **N. Engl. J. Med.**, v. 352, p.1685-1695, 2005.

HART, N. K. et al. Psychotridine, a C₅₅H₆₂N₁₀ alkaloid from *Psychotria beccarioides* (Rubiaceae). **Aust. J. Chem.**, v. 27, p. 639-646, 1974.

HENRIQUES, A. T. et al. Alcaloides, generalidades e aspectos básicos. In: SIMÕES C. M. O. et al. (ed.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. ed. Ed. Porto Alegre: UFRGS ; Florianópolis: UFSC, 2007. , p. 765-791.

HERRAIZ, T.; CHAPARRO, C. Human monoamine oxidase enzyme inhibition by coffee and beta-carbolines norharman and harman isolated from coffee. **Life Sci.**, v. 78, p. 795-802, 2006.

HERRAIZ, T.; GUILLEN, H.; ARAN, V. J. Oxidative metabolism of the bioactive and naturally occurring beta-carboline alkaloids, norharman and harman, by human cytochrome P450 enzymes. **Chem. Res. Toxicol.**, v. 21, p. 2172-2180, 2008.

IRMAK, S.; DUNFORD, N. T. Policosanol contents and compositions of wheat varieties. **J. Agric. Food. Chem.**, v. 53, p. 5583-5586, 2005.

ISHIDA, J. et al. Anti-AIDS agents 46. Anti-HIV activity of harman, an anti-HIV principle from *Symplocos setchuensis* and its derivatives. **J. Nat. Prod.**, v. 64, p. 958-960, 2001.

ITOH, A.; TANAHASHI, T.; NAGAKURA, N. Six tetrahydroisoquinoline-monoterpene glucosides from *Cephaelis ipecacuanha*. **Phytochemistry**, v. 30, p. 3117-3123, 1991.

ITOH, A. et al. Tetrahydroisoquinoline-monoterpene glucosides from *Alangium lamarckii* and *Cephaelis ipecacuanha*. **Phytochemistry**, v. 36, p. 383-387, 1994.

ITOH, A. et al. Hepatoprotective effect of syringic acid and vanillic acid on CCl₄-Induced liver injury. **Biol. Pharm. Bull.**, v. 33, p. 983-987, 2010.

JAIKANG, C. et al. Inhibitory effects of caffeic acid ester analogues on free radicals and human liver microsome CYP1A2 activities. **Med. Chem.**, v. 7, p. 99-105, 2011.

JANNIC, F. et al. Pyrrolidinoindoline Alkaloids from *Psychotria oleoides* and *P. lyciiflora*. **J. Nat. Prod.**, v. 62, p. 838-843, 1999.

JENNINGS, W.; SHIBAMOTO, T. **Qualitative analysis of flavour and fragrance volatiles by glass capillary gas chromatography**, Academic Press, New York, 1980.

JEREZANO, A. et al. New approach for the construction of the coumarin frame and application in the total synthesis of natural products. **Helv. Chim. Acta**, v. 94, p. 185-198, 2011.

JI, R., STRICHARTZ, G. Cell signaling and the genesis of neuropathic pain. **Sci. STKE**, v. 252, p. reE14, 2004.

JULIUS, D.; BASBAUM, A. I. Molecular mechanisms of nociception. **Nature**, v. 413, p. 203-210, 2001.

JUNG, H. et al. 19 α -Hydroxyursane-type triterpenoids: antinociceptive anti-inflammatory principles of the roots of *Rosa rugosa*. **Biol. Pharm. Bull.**, v. 28, p. 101-104, 2005.

KAMIYA, H. et al. Polyol pathway and protein kinase C activity of rat Schwannoma cells. **Diabetes Metab. Res. Rev.**, v. 19, p.31-39, 2003.

KATO, L. et al. Antiprotozoal Alkaloids from *Psychotria prunifolia* (Kunth) Steyerm. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 23, p. 355-360, 2012.

KEMMERLING, W. Toxicity of *Palicourea marcgravii*: combined effects of fluoroacetate, N-methyltyramine and 2-methyltetrahydro-beta-carboline. **Z. Naturforsch. C: Journal of biosciences**, v. 51, p. 59-64, 1996.

KERBER, V. A. **Análise dos Alcalóides de *Psychotria brachyceras* Müll. Arg. e *P. umbellata* Vell., e o estabelecimento e caracterização de cultura de células de *P. umbellata* Vell.** Tese (Doutorado em Farmácia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1999.

KERBER, V. A. et al. Brachycerine, a novel monoterpene indole alkaloid from *Psychotria brachyceras*. **J. Nat. Prod.**, v. 64, p. 677–679, 2001.

KERBER, V. A. et al. Psychollatine, a glucosidic monoterpene indole alkaloid from *Psychotria umbellata*. **J. Nat. Prod.**, v. 71, p. 697–700, 2008

KHAN, M. R.; KIHARA, M.; OMOLOSO, A. D. Antimicrobial activity of *Psychotria microlabastra*. **Fitoterapia**, v. 72, p. 818-821, 2001.

KHAN S.A. et al. Sabiceeae and Virectarieae (Rubiaceae, Ixoroideae): one or two tribes? New tribal and generic circumscriptions of Sabiceeae and biogeography of Sabicea s.l. **Taxon**, v. 57, p. 1-17, 2008.

KHAN S. A. **New delimitations and phylogenetic relationships of Sabiceeae (Ixoroideae, Rubiaceae) and revision of the Neotropical species of *Sabicea* Aubl.** Tese (Doutorado em Botânica) - Universidade de Bayreuth, Bayreuth, 2007.

KIM, H.J. et al. Scopoletin suppresses pro-inflammatory cytokines and PGE2 from LPS-stimulated cell line, RAW 264.7 cells. **Fitoterapia**, v. 75, p. 261-266, 2004.

KINOSHITA, K. et al. Antinociceptive effect of triterpenes from cacti. **Pharm. Biol.**, v. 36, p. 50 -57, 1998.

KLAUMANN, P. R.; WOUK, A. F. P. F.; SILLAS, T. Patofisiologia da dor. **Arch. Vet. Sci.**, v. 13, p. 1-12, 2008.

KOEHN, F. E.; CARTER, G. T. The evolving role of natural products in drug discovery. **Nat. Rev. Drug Discov.**, v. 4, p. 206-220, 2005.

- KREBS, H.C.; KEMMERLING, W; HABERMEHL, G. Qualitative and quantitative determination of fluoroacetic acid in *Arrabidaea bilabiata* and *Palicourea marcgravii* by 19F-NMR spectroscopy. **Toxicon**, v. 32, p. 909-913, 1994.
- KUMAR, V. et al. **Robbins Patologia Básica**, 8. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008. p. 33-62.
- KUO, Y. et al. Regulation of herpes simplex virus type 1 replication in Vero cells by *Psychotria serpens*: relationship to gene expression, DNA replication, and protein synthesis. **Antiviral Res.**, v. 51, p. 95–109, 2001.
- KUPFERWASSER, L. I. et al. Salicylic acid attenuates virulence in endovascular infections by targeting global regulatory pathways in *Staphylococcus aureus*. **J Clin Invest.**, v. 112, p. 222-233, 2003.
- KUSURKAR, R. S.; GOSWAMI, S. K. Efficient one-pot synthesis of anti-HIV and anti-tumour β -carboline. **Tetrahedron**, v.60, p. 5315-5318, 2004.
- LAJIS, N. H.; MAHMUD, Z.; TOIA, R. F. The alkaloids of *Psychotria rostrata*. **Planta Med.**, v. 59, p. 383-384, 1993.
- LEAL L. K. A. M. et al. A comparative chemical and pharmacological study of standardized extracts and vanillic acid from wild and cultivated *Amburana cearensis* A. C. Smith. **Phytomedicine**, v. 18, p. 230-233, 2011.
- LE BARS, D.; GOZARIU, M.; CADDEN, S. W. Animal models of nociception. **Pharmacol. Rev.**, 53, 597-652, 2001.
- LEE, I. S. et al. Cytotoxic and COX-2 inhibitory constituents from the aerial parts of *Aralia cordata*. **Arch. Pharm. Res.**, v. 29, p. 548-555, 2006.
- LE MOS, R. P. L. et al. **Checklist**: flora de Alagoas: angiospermas. Maceió: Instituto do Meio Ambiente de Alagoas, 2010.
- LI, X. et al. Psychotripine: A new trimeric pyrroloindoline derivative from *Psychotria pilifera*. **Org. Lett.**, v. 13, p. 5896-5899, 2011.
- LIBOT, F. et al. Rubiacées d'Océanie: alcaloïdes de *Psychotria oleoides* Schlechter de Nouvelle Calédonie et de *Calycodendron rnilnei* (A. Gray) A.C. Smith du Vanuatu (Nouvelles-Hébrides), **J. Nat. Prod.**, v. 50, p. 468-473, 1987.
- LIN, A. N.; NAKATSUI, T. Salicylic acid revisited. **Int. J. Dermatol.**, v. 37, p. 335-342, 1998.

- LIMA, G. S. **Estudo químico biomonitorado das folhas e do caule de *Guettarda grazielae* M. R. V. Barbosa (Rubiaceae)**. Dissertação, 2008. (Mestrado em Química e Biotecnologia) – Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2008.
- LIMA, G. S. et al. Triterpenos de *Guettarda grazielae* M. R. V. Barbosa (Rubiaceae). **Rev. Bras. Farmacogn.**, v. 19, p. 284-289, 2009.
- LING, S. K. et al. Iridoids and anthraquinones from the Malaysian medicinal plant, *Saprosma acortechinii* (Rubiaceae), **Chem. Pharm. Bull.**, v. 50, p. 1035-1040, 2002.
- LIU, X.L. et al. Effect of scopoletin on PC3 cell proliferation and apoptosis. **Acta Pharmacol. Sin.**, v. 22, p.929-933, 2001.
- LOCHER, C. P. et al. Anti-microbial activity and anti-complement activity of extracts obtained from selected Hawaiian medicinal plants. **J. Ethnopharmacol.**, v. 49, p. 23-32, 1995.
- LOPES, S. O. **Análise química e cultivo *in vitro* de *Psychotria leiocarpa* Cham. et Schlecht. e *Psychotria carthagenensis* Jacq. (Rubiaceae)**. Dissertação 1988. (Mestrado em Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1998.
- _____. et al. Taxonomic significance of alkaloids and iridoid glucosides in the tribe Psychotrieae (Rubiaceae). **Biochem. Syst. Ecol.**, v. 32, p.1187– 1195, 2004.
- LUBINI, G. et al. Extracts affecting mitotic division in root-tip meristematic cells. **Biologia**, v. 63, 647–651, 2008.
- LOUIS, E. D. et al. Cancer and Blood Concentrations of the Co-mutagen Harmane in Essential Tremor. **Mov. Disord.**, v. 23, p. 1747-1751, 2008.
- _____. et al. Relationship between blood harmane and harmine concentrations in familial essential tremor, sporadic essential tremor and controls. **Neurotoxicology**, v. 31, p. 674-679, 2010.
- LUENGO, M. B. Uma revisão histórica dos principais acontecimentos da imunologia e da farmacologia na busca do entendimento e tratamento das doenças inflamatórias. **Rev. Eletr. Farm.**, v. 2, p. 64-72, 2005.
- MACARI, P. A. T.; EMERENCIANO, V. P.; FERREIRA, Z. M. G. S. Identificação dos triterpenos de *Miconia albicans* Triana através de análise por microcomputador. **Qui. Nova**, v. 13, p. 160-162, 1990.

MACIEL, M. A. M. et al. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Quim. Nova**, v. 25, p.429-438, 2002.

MAHATO, S. B.; KUNDU, A. P. ¹³C NMR Spectra of pentacyclic triterpenoids – A compilation some salient features. **Phytochemistry**, v. 47, p. 1517-1575, 1994.

MALDINI, M. et al. Screening of the topical anti-inflammatory activity of the bark of *Acacia cornigera* Willdenow, *Byrsonima crassifolia* Kunth, *Sweetia panamensis* Yakovlev and the leaves of *Sphagneticola trilobata* Hitchcock. **J. Ethnopharmacol.**, v. 122, p. 430–433, 2009.

MARGALHO, L. F.; ROCHA A. E. S.; SECCO, R. S. Rubiaceae Juss. da restinga da APA de Algodual/Maiandeuá, Maracanã, Pará, Brasil. Bol Mus Para Emílio Goeldi. **Cienc. Nat.**, v. 4, p. 303-339, 2009.

MARSHALL, B. T et al. Direct observation of catch bonds involving cell-adhesion molecules. **Nature**, v. 42, p. 190-193, 2003.

MATOS, F. J. A. **Introdução à Fitoquímica Experimental**. 2. ed. Fortaleza: Editora da UFC, 1997.

McGAW, L. J.; JAGER, A. K.; VAN STADEN, J. Antibacterial, anthelmintic and anti-amoebic activity in South African medicinal plants. **J. Ethnopharmacol.**, v. 72, p. 247-263, 2000.

McGEER, P. L.; McGEER, E. G. The inflammatory response system of brain: implications for therapy of Alzheimer and other neurodegenerative diseases. **Brain Res. Rev.**, v. 21 p. 195–218, 1995.

MCKENNA, D.; TOWERS, G. H. N.; ABBOTT, F. S. Monoamine oxidase inhibitors in South American hallucinogenic plants: tryptamine and β -carboline constituents of ayahuasca. **J. Ethnopharmacol.**, v.10, p. 195– 223, 1984.

McMAHON, S. B.; CAFFERTY, W. B. J.; MARCHAND, F. Immune and glial cell factors as pain mediators and modulators. **Exp. Neurol.**, v. 192, p. 444-462, 2005.

MCNAMARA, C. R. et al. TRPA1 mediates formalin-induced pain. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.**, v. 104, p. 13525-13530, 2007.

MEDZHITOV, R. Origin and physiological roles of inflammation. **Nature**, v. 454, p. 428-435, 2008.

MEOTTI, F. C. et al. Antinociceptive properties of coumarins, steroid and dihydrostyryl-2-pyrone from *Polygala sabulosa* (Polygalaceae) in mice. **J. Pharm. Pharmacol.**, v. 58, p. 107-112, 2006.

MILLAN, M. J. The induction of pain: an integrative review. **Prog. Neurobiol.**, v. 57, p. 1-164, 1999.

MIZUSHINA, Y. et al. β -Sitosterol-3-O- β -D-glucopyranoside: A eukaryotic DNA polymerase λ inhibitor. **J. Steroid Biochem. Mol. Biol.**, v. 99, p. 100-107, 2006.

MONGRAND, S. et al. Chemotaxonomy of the Rubiaceae family based on leaf fatty acid composition. **Phytochemistry**, v. 66, p. 549-559, 2005.

MOORE, A. R. Pleural models of inflammation: immune and nonimmune. **Methods Mol. Biol.**, v. 225, p. 123-128, 2003.

MORAES, T. M. S. et al. Comparative leaf anatomy and micromorphology of *Psychotria* species (Rubiaceae) from the Atlantic Rainforest. **Acta Bot. Bras.**, v. 25, p. 178-190, 2011.

MORITA, H. et al. A new indol alkaloid from the leaves of *Palicourea marcgravii*. **Planta Med.**, v. 55, p. 288-289, 1989.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **J. Immunol. Methods**, v. 65, p. 55-63, 1983.

MOURA, S. et al. qNMR: An applicable method for the determination of dimethyltryptamine in ayahuasca, a psychoactive plant preparation. **Phytochem. Lett.**, v. 3, p. 79-83, 2010.

MUHAMMAD, I. et al. Antiparasitic alkaloids from *Psychotria klugii*. **J. Nat. Prod.** v. 66, p. 962-967, 2003.

MURRAY, C. W.; PORRECA, F.; COWAN, A. Methodological refinements to the mouse paw formalin test. An animal model of tonic pain. **J. Pharmacol. Methods**, v. 20, p.175-186, 1988.

MURILLO, R.; CASTRO, V. H. Un alcaloide del tipo harmano aislado de la *Psychotria suerrensii* (Rubiaceae). **Ing. Cie. Quím.**, v. 18, p. 61-62. 1998.

NAGAKURA, N.; ITOH, A.; TANAHASHI, T. Four tetrahydroisoquinoline-monoterpene glucosides from *Cephaelis ipecacuanha*. **Phytochemistry**, v. 32, p. 761-765, 1993.

NONATO, F. R. et al. Antiinflammatory and antinociceptive activities of *Blechnum occidentale* L. extract. **J. Ethnopharmacol.**, v. 125 p. 102-107, 2009.

NOURSHARGH, S.; HORDIJK, P. L.; SIXT, M. Breaching multiple barriers: leukocyte motility through venular walls and the interstitium. **Nat. Rev. Mol. Cell Biol.**, v. 11, p. 366-378, 2010.

OLIVEIRA, A. M. et al. Antinociceptive and Anti-inflammatory effects of octacosanol from the leaves of *Sabicea grisea* var. *grisea* in mice. **Int. J. Mol. Sci.**, v. 13, p. 1598-1611, 2012.

ORHAN, I.; TOSUN, F.; SENER, B. Coumarin, anthroquinone and stilbene derivatives with anticholinesterase activity. **Z. Naturforsch. C.** v. 63, p. 366-370, 2008.

PANDA, S.; KAR, A. Evaluation of the antithyroid, antioxidative and antihyperglycemic activity of scopoletin from *Aegle marmelos* leaves in hyperthyroid rats. **Phytother. Res.** v. 20, p.1103-1105, 2006.

PARK, K. A.; VASKO, M. R. Lipid mediators of sensitivity in sensory neurons. **Trends Pharmacol. Sci.**, v. 26, p. 571-577, 2005.

PARMAR, S. U. et al. Phytochemistry of the genus *Piper*. **Phytochemistry**, v. 46, p. 597-573, 1997.

PATWARDHAN, B. Ethnopharmacology and drug discovery. **J. Ethnopharmacol.**, v. 100, p. 50–62, 2005.

PAUL, J. H. A.; MAXWELL, A. R.; REYNOLDS, W. F. Novel bis (monoterpenoid) indole alkaloids from *Psychotria bahiensis*. **J. Nat. Prod.**, v. 66, p. 752-754, 2003.

PERAZA, G.G. et al. O uso de modelos animais para avaliar o potencial antinociceptivo dos produtos de origem natural. **Vitalle**, v.19, p. 35-44, 2007.

PEREIRA, Z. V.; CARVALHO-OKANO, R. M.; GARCIA, F. C. P. Rubiaceae Juss. da Reserva Florestal Mata do Paraíso, Viçosa, MG, Brasil. **Acta Bot. Bras.**, v. 20, 207-224, 2006.

PEREIRA, R.; MEDEIROS, Y. S.; FRÖDE, T. S. Antiinflammatory effects of *Tacrolimus* in a mouse model of pleurisy. **Transplant Immunol.**, v. 16, p. 105-111, 2006.

PEREIRA, M. S.; ALVES, R. R. N. Composição Florística de um remanescente de Mata Atlântica na Área de Proteção Ambiental Barra do Rio Mamanguape, Paraíba, Brasil. **Rev. Biol. Cienc. Ter.**, v. 7, p.1-10, 2007.

PFAU, W.; SKOG, K. Exposure to β -carbolines norharman and harman. **J. Chromatogr. B**, v. 802, p. 115-126, 2004.

PILARSKI, R. et al. Anticancer activity of the *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC. Preparations with different oxindole alkaloid composition. **Phytomedicine**, v. 17, p. 1133-1139, 2010.

PICADA, J. N. et al. Genotoxic effects of structurally related β -carboline alkaloids. **Mutat. Res.**, v. 379, p. 135-149, 1997.

PIMENTA, A. T. A. et al. Unusual monoterpene indole alkaloids from *Psychotria stachyoides* Benth. **Magn. Reson. Chem.**, v. 48, p. 734-737, 2010a.

PIMENTA, A. T. A. et al. Structure elucidation and NMR assignments of two unusual monoterpene indole alkaloids from *Psychotria stachyoides*. **Biochem. Syst. Ecol.**, v. 38, p. 846-849, 2010b.

PIMENTA, A.T.A. et al. Alkaloid and other Chemical Constituents from *Psychotria stachyoides* Benth. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 22, p. 2216-2219, 2011.

PINHEIRO, R. A. Dor e religião. **Rev. Dor**, v. 8, p. 1113-1115, 2007

POMILIO, A. B. et al. Ayahoasca: an experimental psychosis that mirrors the transmethylation hypothesis of schizophrenia. **J. Ethnopharmacol.**, v. 65, p. 29-51, 1999.

PONOU, B. K. et al. Polyhydroxyoleanane-type triterpenoids from *Combretum molle* and their anti-inflammatory activity. **Phytochem. Lett.**, v. 1, p.183-187, 2008.

PORTO, D. D., HENRIQUES, A. T., FETT-NETO, A. G. Bioactive Alkaloids from South American *Psychotria* and Related Species. **The Open Bioactive Compounds Journal**. v. 2, p. 29-36, 2009.

QIANG-GUO, L. et al. Synthesis, characterization and standard molar enthalpy of formation of $\text{Nd}(\text{C}_7\text{H}_5\text{O}_3)_2 \cdot (\text{C}_9\text{H}_6\text{NO})$. **J. Thermal Anal. Calorim.**, v. 91, p. 615-620, 2008.

RANG, H.P. et al. **Rang & Dale Farmacologia**, 6. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007. p. 131-276.

- RANKIN, P. C. Application of negative ions mass spectrometry of long chain aldehydes and alcohols. **Lipids**, v. 5, p. 825-831, 1970.
- RAVELO, Y. et al. Evaluation of anti-inflammatory and antinociceptive effects of D-002 (beeswax alcohols). **J. Nat. Med.**, v. 65, p. 330–335, 2011.
- REANMONGKOL W. et al. Antinociceptive and antipyretic effects of alkaloids extracted from the stem bark of *Hunteria zeylanica*. **Biol. Pharm. Bull.**, v.17, p.1345-1350, 1994.
- REANMONGKOL, W. et al. Analgesic and antipyretic activities of *n*-butanol alkaloids extracted from the stem bark *Hunteria zeylanica* and its major constituent, strictosidinic acid, in mice. **Pharm. Biol.**, v. 38, p. 68-73, 2000.
- REDDY, G. C. S.; AYENGAR, K. N. N.; RANGASWAMI, S. Triterpenoids of *Gardenia latifolia*. **Phytochemistry**, v 14, p. 307, 1975.
- REZA, V.R.; ABBAS, H.J. Cytotoxicity and antimicrobial activity of harman alkaloids. **Pharmacol. Toxicol.**, v. 2, p. 677-680, 2007.
- RIBAS, C.M. et al. Antinociceptive effect of the *Polygala sabulosa* hydroalcoholic extract in mice: evidence for the involvement of glutamatergic receptors and cytokine pathways. **Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.**, v.103, p. 43-47, 2008.
- RIBEIRO, R. A. et al. Involvement of resident macrophages and mast cells in the writhing nociceptiveresponse induced by zymosan and acetic acid in mice. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 387, p. 111-118, 2000.
- RIBEIRO DE ASSIS, J. C. S. Analysis of the toxic potential of *Palicourea corymbifera* Müll Arg. Standl. in laboratory animals. **Res.Vet. Sci.** 80, 209-217, 2006
- RIVIER, L.; LINDGREN, J. *Ayohuasca*, the South American hallucinogenic drink:ethnobotanical and chemical investigations. **Eco. Bot.**, v. 29, p. 101-129, 1972.
- ROBBRECHT, E. Tropical woody Rubiaceae. **Opera Bot. Belg.**, v. 1, p. 1–272, 1988.
- ROBBRECHT, E. Supplement to the 1988 outline of the classification of the Rubiaceae, index to genera. In: Robbrecht, E. (ed.), *Advances in Rubiaceae macrosystematics*. **Opera Bot. Belg.**, v. 6, p. 173-196, 1993.
- ROMERO, T. R. L.; DUARTE, I. D. G. Involvement of ATP-sensitive K⁺ channels in the peripheral antinociceptive effect induced by the α 2-adrenoceptor agonist xylazine. **J Pharmacol Sci.**, v. 111, p. 323-327, 2009.

ROTH, A. et al. Preliminary study of the alkaloids of *Psychotria forsteriana*. **Planta Med.**, v. 51, p. 289-289, 1985.

_____. et al. et al. Cytotoxic activity of polyindoline alkaloids of *Psychotria forsteriana* (Rubiaceae) (1). **Planta Med.**, v. 52, p. 450-453, 1986.

ROUMY, V. et al. Amazonian plants from Peru used by Quechua and Mestizo to treat malaria with evaluation of their activity. **J. Ethnopharmacol.**, v. 112, p. 482-489, 2007.

SAITO, M. et al. N-hexacosanol ameliorates streptozotocin-induced diabetic rat nephropathy. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 544, p. 132-137, 2006.

SOLDI, C. et al. Synthetic derivatives of the α - and β -amyryn triterpenes and their antinociceptive properties. **Bioorg. Med. Chem.** v.16, p. 3377-3386, 2008.

SANTOS, A. R. et al. Antinociceptive properties of steroids isolated from *Phyllanthus corcovadensis* in mice. **Planta Med.**, v. 61, p. 329-332, 1995.

SAINT-JOHN, M. M. L. Octacosanol ingestion and its effects on metabolic responses to submaximal cycle ergometry, reaction time and chest and grip strength. **Int. Clin. Nutr. Rev.**, v.1, p. 81-87, 1986.

SAHPAZ, S.; GUPTA, M. P.; HOSTETTMANN, K. Triterpene saponins from *Randia formosa*. **Phytochemistry**, v. 54, p. 77-84, 2000.

SCHONS, S. V. et al. Poisoning by *Amorimia* (Mascagnia) *sepium* in sheep in northern Brazil. **Toxicon**, v. 57, p. 781-786, 2011.

SENGUPTA J. N. Visceral pain: the neurophysiological mechanism. **Handb. Exp. Pharmacol.**, v. 194, p. 31-74, 2009.

SERRANO, M. C.; LOPES, A. C.; SERUYA, A. I. Plantas Tintureiras. **Rev. de Ciências Agrárias**, v. 31, p. 3-21, 2008.

SHERWOOD, E. R.; TOLIVER-KINSKY, T. Mechanisms of the inflammatory response. **Best Pract. Res. Clin. Anaesthesiol.**, v. 18, p. 385-405, 2004.

SHI, C-C. et al. Vasorelaxant effect of harman.. **Eur. J. Pharmacol.** v. 390, p. 319-325, 2000.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSON, F. X.; KIEMLE, D. J. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 7.ed., Rio de Janeiro: LTC, 2007.

SIMÕES-PIRES, C. A. et al. Indolemonoterpenes with antichemotactic activity from *Psychotria myriantha*: chemotaxonomic significance. **Nat. Prod. Commun.**, v.1, p.1101-1106, 2006.

SOARES, C. C. et al. Atividade analgésica do extrato da *Pectis jangadensis* (S. Moore). **Rev. Bras. Farmacogn.**, v.19, p. 77-81, 2009

SOLIS, P. N. et al.1993. Alkaloids from *Cephaellis dichroa*. **Phytochemistry**, v. 33, p. 1117-1119, 2003.

SOLIS, P. N. et al. Quinoline alkaloids from *Psychotria glomerulata*. **Phytochemistry**, v. 44, p. 963-969, 1997.

SOUSA, F. A. E. F.; DA SILVA, J. A. Mensurando dor. **Rev. Dor**, v. 6, p. 680-687, 2005.

SOUSA, J. S. I. et al. **Enciclopédia agrícola brasileira** –São Paulo: EdUSP, 2000. v. E-H.

STEEN K.H.; REEH, P.W.; KREYSEL, H.W. Topical acetylsalicylic, salicylic acid and indomethacin suppress pain from experimental tissue acidosis in human skin. **Pain**, v. 62, p.339-347, 1995.

STUART, K. L.; WOO-MING, R. B. *Palicourea* alkaloids. Structure of palinine. **Tet. Lett.**, v. 44, p. 3853-3856, 1974

STUCKY, C. L.; GOLD, M. S.; ZHANG, X. Mechanisms of pain. **Proc. Natl. Acad. Sci. U S A**, v. 98, p. 11845-11856, 2001.

SULTANOVA, N.A. et al. Biologically active compounds from *Tamarix hispida*. II. **Chem. Nat. Compd.**; v. 40, p. 192-193, 2004.

TAKAC, M. J-M.; TOPIC, D. V. FT-IR and NMR spectroscopic studies of salicylic acid derivatives. II. Comparison of 2-hydroxy- and 2,4- and 2,5-dihydroxy derivatives. **Acta Pharm.**, v.5, p. 177-191, 2004.

TAKAYAMA, H. et al. New type of trimeric and pentameric indole alkaloids from *Psychotria rostrata*. **Org. Lett.** v. 6, p. 2945-2848, 2004.

TAKHTAJAN, A. L. **The floristic regions of the world**. Berkeley: UC Press, 1986.

TAYLOR, C. M. Overview of the Psychotrieae (Rubiaceae) in the neotropics. **Opera Bot. Belg.**, v. 7, p. 261-270, 1996.

TAYLOR, C. M. *Cephaelis* (Rubiaceae: Psychotrieae). Disponível na internet no endereço <http://www.mobot.org/MOBOT/Research/taylor/cephaelis.shtml>, 2010.

TEIXEIRA, L. A. G.; MACHADO, I. C. Biologia da polinização e sistema reprodutivo de *Psychotria barbiflora* DC. (Rubiaceae). **Acta Bot. Bras.**, v. 18, p. 853-862, 2004.

THIPPESWAMY, G.; SHEELA, M. L.; SALIMATH, B. P. Octacosanol isolated from *Tinospora cordifolia* down regulates *VEGF* gene expression by inhibiting nuclear translocation of NF- κ B and its DNA binding activity. **Eur. J. Pharmacol.**, 2008, v. 588, p.141-150, 2008.

TJOLSEN, A. et al. The formalin test: an evaluation of the method. **Pain**, v. 51, p. 5-17, 1992.

TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J.; PEIXOTO, P. V. Poisonous plants affecting livestock in Brazil. **Toxicon**, v. 40, p. 1635-1660, 2002.

TREPELS, S.; ZEIHNER, A. M.; FICHTLSCHERER, S. The endothelium and inflammation. **Endothelium**, v. 13, p. 423-429, 2006.

TSUJI, R. F. et al. Suppression of allergic reaction by lambda-carrageenan: toll-like receptor 4/MyD88-dependent and independent modulation of immunity. **Clin. Exp. Allergy.**, v. 33, p. 249-258, 2003.

UTSUNOMIYA, I.; ITO, M.; OH-ISHI, S. Generation of inflammatory cytokines in zymosan-induced pleurisy in rats: TNF induces IL-6 and cytokine-induced neutrophil chemoattractant (CINC) *in vivo*. **Cytokine**, v.10, p. 956-963, 1998.

VALADARES, M. C. Avaliação de toxicidade aguda: Estratégias após a “Era do Teste DL₅₀”. *Rev. Eletron. Farm.*, v. 3, p. 93-98, 2006.

VALADEAU, C. et al. The rainbow hurts my skin: medicinal concepts and plants uses among the Yanesha (Amuesha), an Amazonian Peruvian ethnic group. **J. Ethnopharmacol.**, v. 127, p. 175-192, 2010.

VALERIO, M.; AWAD, A. B. β -Sitosterol down-regulates some pro-inflammatory signal transduction pathways by increasing the activity of tyrosine phosphatase SHP-1 in J774A.1 murine macrophages. **Int. Immunopharmacol.**, v. 11, p. 1012-1017, 2011.

VALVERDE, J.; TAMAYO, G.; HESSE, M. Beta-carboline monoterpenoid glucosides from *Palicourea adusta*. **Phytochemistry**, 52, 1485-1489, 1999.

VANE, J. R.; BOTTING, R. M. Mechanism of action of nonsteroidal anti-inflammatory drug. **Am. J. Med.**, v. 104, p. 2S-8S, 1998.

VEROTTA, L. et al. Synthesis and antinociceptive activity of chimonanthines and pyrrolidinoindoline-type alkaloids. **Bioorg. Med. Chem.**, v.10, p. 2133-2142, 2002.

VEROTTA, L. et al. Pyrrolidinoindoline alkaloids from *Psychotria colorata* **J. Nat. Prod.**, v. 61, p. 392-396, 1998.

VEROTTA, L. et al. High-performance liquid chromatography–diode array detection–tandem mass spectrometry analyses of the alkaloid extracts of Amazon *Psychotria* species **J. Chromatogr. A**, v. 841, p. 165-176, 1999.

VINEGAR, R.; TRAU, J. F.; SELPH, J. L. Some quantitative temporal characteristic of carragenin-induced pleurisy in the rat. **Proc. Soc. Exp. Bio. Med.**, v. 143, p. 711-714, 1973.

VIVIER, E.; MALISSEN, B. Innate and adaptive immunity: specificities and signaling hierarchies revisited. **Nat Immunol.**, v. 6, p. 17-21, 2005.

VOILLEY, N. et al. Nonsteroid anti-inflammatory drugs inhibit both the activity and the inflammation-induced expression of acid-sensing ion channels in nociceptors. **J. Neurosci.**, v. 21, p. 8026-8033, 2001.

WALKER, T. M. et al. A phytochemical investigation of *Zanthoxylum setulosum*. **Nat. Prod. Commun.**, v.6, p.1807-1808, 2011.

WANG, F. et al. Triterpenoids from the resin of *Styrax tonkinensis* and their antiproliferative and differentiation effects in human leukemia HL-60 cells. **J. Nat. Prod.**, v. 69, p. 807-810, 2006.

WANG, T. et al. Protective effects of octacosanol on 6-hydroxydopamine-induced Parkinsonism in rats via regulation of ProNGF and NGF signaling. **Acta Pharmacol. Sin.**, v. 31, p. 765-774, 2010.

WANG, X-L. et al. Structure elucidation and NMR assignments of two new triterpenoids from the stems of *Paragonia pyramidata* (Bignoniaceae). **Magn. Reson. Chem.**, v. 49, p. 184-189, 2011.

WERNHAM, H. F. **A monograph of the genus *Sabicea***. London: Longmans; B. Quaritch; Dulau; British Museum (Natural History), 1914.

WOOLF, C. J.; MA, Q. Nociceptors--noxious stimulus detectors. **Neuron**, v. 55, p. 353-364, 2007.

WOOLF, C. J.; SALTER, M. W. Neuronal plasticity: increasing the gain in pain. **Science**, v. 288, p. 1765-1769, 2000.

XIANG, M. et al. Isolation, identification and determination of methyl caffeate, ethyl caffeate and other phenolic compounds from *Polygonum amplexicaule* var. *sinense*. **J. Med. Plant. Res.**, v. 5, p. 1685-1691, 2011.

YAKSH, T. L. Pharmacology and mechanisms of opioid analgesic activity. **Acta Anaesthesiol. Scand.**, v. 41, p. 94-111, 1997.

ZAPPI, D.; PESSOA, M. C. R. *Sabicea* in **Lista de espécies da flora do Brasil**. Rio de Janeiro: Jardim Botânico. (<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2010/FB014279>), 2010.

ZEILHOFER, H. U. Synaptic modulation in pain pathways. **Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.**, v. 154, p. 73-100, 2005.

ZHANG, Z. et al. Antioxidant phenolic compounds from walnut kernels (*Juglans regia* L.). **Food Chem.**, v. 113, p.160-165, 2009.

ZHOU, H. et al. A new dimeric alkaloid from the leaf of *Psychotria calocarpa*. **Helv. Chim. Acta**, v. 93, p. 1650- 1652, 2010.